

**Humorale Immunglobulin G- und -M-Bestimmungen  
mittels kompetitivem ELISA im letzten Trimester der  
Gravidität sowie im peripartalen Zeitraum bei  
Milchrindern unter besonderer Berücksichtigung intra-  
und postpartaler Komplikationen**

**Marco Herr**

**INAUGURAL-DISSERTATION**  
zur Erlangung des Grades eines  
Dr. med.vet.  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig Universität Gießen





Aus dem Klinikum Veterinärmedizin, Klinik für Geburtshilfe,  
Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit  
Tierärztlicher Ambulanz  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Professor Dr. Dr. h. c. mult. H. Bostedt

**Humorale Immunglobulin G- und -M-Bestimmungen  
mittels kompetitivem ELISA im letzten Trimester der  
Gravidität sowie im peripartalen Zeitraum bei  
Milchrindern unter besonderer Berücksichtigung intra-  
und postpartaler Komplikationen**

**INAUGURAL-DISSERTATION**  
zur Erlangung des Grades eines  
Dr. med.vet.  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig Universität Gießen

Eingereicht von

**Marco Herr**

Tierarzt aus Baden-Baden

Gießen, 2009

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Professor Dr. Dr. habil. G. Baljer

---

Gutachter: Professor Dr. Dr. h. c. mult. H. Bostedt

Professor Dr. J. Roth

Tag der Disputation: 28. Mai 2009

LERNEN UND NICHT DENKEN IST NICHTIG.  
DENKEN UND NICHT LERNEN IST GEFÄHRLICH.

Konfuzius

*Meiner Familie in Liebe  
und mit herzlichem Dank*

*Im Gedenken an Opa Franz*

## **Inhaltsverzeichnis**

	Seite
<b>1. Einleitung und Fragestellung</b>	<b>1</b>
<b>2. Schrifttum</b>	<b>4</b>
<b>2.1. Humorale und zelluläre Immunität</b>	<b>4</b>
2.1.1 Aufgaben der humoralen und zellulären Abwehrmechanismen	4
2.1.2 B-Lymphozyten	4
2.1.3 Immunglobulinklassen des Rindes und ihre Bedeutung	5
2.1.3.1 Immunglobulin G	7
2.1.3.2 Immunglobulin M	8
2.1.3.3 Immunglobulin A	9
2.1.3.4 Immunglobulin E	9
2.1.4 Zelluläre Abwehr	11
2.1.4.1 T-Lymphozyten	11
<b>2.2 Messverfahren zur Quantifizierung der Immunglobuline</b>	<b>12</b>
2.2.1 Zinksulfattrübungstest (ZST)	13
2.2.2 Latexagglutinationstest (LAT)	13
2.2.3 Nephelometrie	14
2.2.4 Glutaraldehyd-Koagulationstest (GCT)	14
2.2.5 Einfache Radiale Immundiffusion (sRid)	15
2.2.6 Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	15
<b>2.3 Bestimmende immunologische Parameter unter physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen in der prä- und postpartalen Phase</b>	<b>18</b>
2.3.1 Humorale Immunglobulinkonzentrationen im peripartalen Zeitraum	18
2.3.2 Kolostraler Immunglobulingehalt	23
2.3.3 Serum-Kortisolkonzentrationen im peripartalen Zeitraum	27
2.3.4 Auswirkungen von prä-, intra- und postpartalen Vorgängen auf das weiße Hämogramm	29
<b>2.4 Bedeutung von Dystokien und postpartalen Störungen in Milchrinderbeständen</b>	<b>30</b>

<b>3.</b>	<b>Eigene Untersuchungen</b>	<b>33</b>
<b>3.1.</b>	<b>Material</b>	<b>33</b>
3.1.1	Probandenkollektiv	33
3.1.2	Gruppeneinteilung	36
<b>3.2.</b>	<b>Methoden</b>	<b>37</b>
3.2.1	Entnahmeintervalle und Probengewinnung	37
3.2.2	Aufbereitung und Lagerung der Proben	39
<b>3.3.</b>	<b>Laboruntersuchungen</b>	<b>40</b>
3.3.1	Bestimmung von Immunglobulin G und M	40
3.3.1.1	ELISA zur Bestimmung des IgG-Gehaltes im Serum und im Kolostrum von Rindern	40
3.3.1.2	ELISA zur Bestimmung des IgM-Gehaltes im Serum und im Kolostrum von Rindern	46
3.3.1.3	Erstellung von Eichgeraden	52
3.3.1.4	Wiederfindungsversuche	53
3.3.2	Bestimmung der Leukozyten- und Lymphozytenkonzentration	53
3.3.3	Bestimmung der Kortisolkonzentration	55
3.3.4	Bestimmung der Schilddrüsenhormone (T <sub>3</sub> , T <sub>4</sub> , fT <sub>3</sub> , fT <sub>4</sub> )	56
3.4	Statistische Auswertung	57
<b>4.</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>59</b>
<b>4.1</b>	<b>Berechnung der Eichgeraden</b>	<b>59</b>
<b>4.2</b>	<b>Ergebnisse der Wiederfindungsversuche</b>	<b>60</b>
<b>4.3</b>	<b>Intravasale Konzentrationen an Immunglobulin G und M</b>	<b>64</b>
4.3.1	Immunglobulin G - Bestimmung bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p.	64
4.3.2	Immunglobulin M - Bestimmung bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p.	75
<b>4.4</b>	<b>Intravasale Kortisolkonzentrationen bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p.</b>	<b>87</b>



<b>4.5</b>	<b>Quantifizierung der Schilddrüsenhormone (T<sub>3</sub>, fT<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, fT<sub>4</sub>) bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p.</b>	<b>92</b>
4.5.1	Verlauf der T <sub>3</sub> -Konzentration	92
4.5.2	Verlauf der fT <sub>3</sub> -Konzentration	93
4.5.3	Verlauf der T <sub>4</sub> -Konzentration	94
4.5.4	Verlauf der fT <sub>4</sub> -Konzentration	95
<b>4.6</b>	<b>Intravasale Leukozyten- und Lymphozytenkonzentration bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p.</b>	<b>96</b>
<b>4.7</b>	<b>Beziehungen zwischen Gehalt an Kortisol und Konzentrationen des T<sub>3</sub>, fT<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> sowie fT<sub>4</sub> zu den intravasalen IgG- und IgM-Werten sowie zur Leukozyten- und Lymphozytenzahl</b>	<b>100</b>
<b>4.8</b>	<b>Beziehung zwischen dem Geburtsablauf und den intravasal intrapartalen IgG-, IgM- sowie Kortisolkonzentrationen</b>	<b>109</b>
<b>4.9</b>	<b>Beziehungen zwischen Verlauf der postpartalen Periode und intravasalem IgG- sowie IgM-Status</b>	<b>113</b>
4.9.1	Beziehungen zwischen postpartalen Störungen und intravasalem IgG- sowie IgM-Status bei Tieren nach Eutokie	114
4.9.2	Beziehungen zwischen postpartalen Störungen und intravasalem IgG- sowie IgM-Status bei Tieren nach Dystokie	116
4.9.3	Beziehungen zwischen intrapartalen intravasalen IgG-, IgM- sowie Kortisolkonzentrationen und postpartalen Störungen	129
<b>5.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>134</b>
<b>6.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>174</b>
<b>7.</b>	<b>Summary</b>	<b>178</b>
<b>8.</b>	<b>Literatur</b>	<b>182</b>
<b>9.</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>194</b>
<b>10.</b>	<b>Anhang</b>	<b>196</b>

## 1. Einleitung und Fragestellung

Das Bemühen, den bovinen Immunstatus mit Messungen des humoralen Immunglobulinspiegels näher zu quantifizieren, war in den 60er, 70er und 80er Jahren des vergangenen Jahrhunderts Gegenstand verschiedener Publikationen. Methodenbedingt sind die dafür herangezogenen Probandenkollektive relativ klein und wenig differenziert gewesen. Allerdings beziehen sich die Publikationen vorwiegend auf den allgemeinen Immunstatus, ohne das Leistungsstadium oder die Reproduktionsphase explizit berücksichtigt zu haben. Eine Ausnahme stellt die Arbeit von Larson (1958) dar, der erste indirekte Hinweise auf Veränderungen der humoralen Immunglobulinkonzentrationen im peripartalen Zeitraum gibt. Aufgrund seiner Methodik (Gelelektrophorese) ist aber keine direkte Bestimmung der Immunglobuline möglich gewesen und er konnte daher keine quantitative „Aussage“ treffen. Aus klinischer Sicht erhält die Frage in letzter Zeit besonderes Gewicht, wie sich die Immunglobulinsituation bei Milchrindern im peripartalen Zeitraum verhält, da die Inzidenz an geburtsassoziierten Krankheiten bei dieser Tierart nach wie vor überdurchschnittlich hoch und sogar im Zunehmen begriffen ist. Dieses weltweit in allen Rinderbeständen zu beobachtende Phänomen ist vielfach beschrieben (McDougall, 2001; Diez-Fraile et al., 2003; Lamote et al., 2006). Verschiedentlich wurden die Meinung und der Erklärungsversuch dafür geäußert, dass Kühe im peripartalen Zeitraum unter einer Abwehrschwäche leiden (Kehrli, 1989), welche mit einer erhöhten Kortisolausschüttung in dieser Zeit belegt wird (Comline et al., 1974; Hudson et al., 1975b; Heuwieser et al., 1987; Thun et al., 1994). Dies diente insbesondere bisher als Erklärung dafür, dass bei bovinen Geburtspatienten selbst banale Infektionen manifest werden können und dadurch die postpartalen uterinen Reparations- und Regressionsvorgänge empfindlich gestört werden. Unberücksichtigt bei dieser Diskussion blieb allerdings, dass auch andere Tierarten unter der Geburt einen vorübergehenden Anstieg der Kortisolkonzentrationen aufweisen, ohne dass daraus im Übermaß postpartale Störungen, die sich auf dieser Basis begründen ließen, resultieren.

Durch die Arbeiten von Detilleux et al. (1995), Lona et al. (2001) und Franklin et al. (2005) wurde die Thematik der Abwehrsituation beim Milchrind in der peripartalen Periode jüngst intensiver aufgegriffen. Diese Publikationen bringen zwar wichtige Informationen, welche jedoch einer weiteren Überprüfung und Ausweitung bedürfen. Dies ist schon deshalb notwendig, da die angegebenen Werte sehr stark differieren und über den postpartalen Verlauf

der IgM-Konzentrationen beispielsweise nur ein Hinweis vorliegt (Detilleux et al., 1995). Herausgestellt sei weiterhin, dass die Immunglobuline durch Lona et al. (2001) nur in der Milch bestimmt worden sind, wodurch keine Aussage über den humoralen Immunstatus möglich ist.

Gerade die Erweiterung der Kenntnisse über den postpartalen Verlauf der IgM-Titer scheint notwendig, da IgM ein Pentamer ist, welches das Phänomen des „Klassenswitch“ zeigt und bei der Immunantwort, insbesondere bei Erstkontakt mit einem Antigen, eine äußerst wichtige Rolle spielt. Weiterhin bleiben in diesen Arbeiten Fragen solcher Art offen, wie sich die humoralen Immunglobulinkonzentrationen ab dem Zeitpunkt des Trockenstehens am Ende der Laktationsperiode bis zur Geburt und in der frühen postpartalen Periode entwickeln. Ungeklärt ist darüber hinaus das Problem, wie sich intrapartale Störungen und postpartale Komplikationen auf den humoralen Immunstatus auswirken und ob tatsächlich Korrelationen zwischen dem Immunglobulingehalt und dem geburtsbedingten Kortisolanstieg bestehen.

Die Überlegungen, welche zu dieser vorgelegten Dissertationsschrift führten, wurden auf dieser Basis auf zwei Ebenen geführt. Auf der einen Seite ist es die Beobachtung, dass trotz guter Ernährungs- und Haltungsbedingungen in den Rinderbeständen die Zahl der peripartal auftretenden Störungen und Krankheiten nicht abgenommen hat, sondern sogar eine leicht zunehmende Tendenz zeigt. Auf der anderen Seite ist zu diskutieren dass, während das Bemühen um Erkenntnisse der Einzelursachen dominierte, dafür die Erklärungsversuche auf komplexer Grundlage weitgehend stecken blieben. Dies lag nicht zuletzt daran, dass eine Darstellung des Immunglobulinstatus in größeren Serien bis vor wenigen Jahren nicht möglich war, da nur das Verfahren der einfachen radialen Immundiffusion für die Analyse zur Verfügung stand. Erst die Entwicklung einer Messmethode auf Basis eines ELISA machte es möglich, auch größere Untersuchungsreihen für eine differenzierte Betrachtungsweise anzulegen. So gestattet diese von Stengel (1998) sowie Bender und Bostedt (2008) beschriebene Methode, IgG und IgM von größeren Tierzahlen und dem damit verbundenen höheren Probenaufkommen exakt zu bestimmen, und bestehende Variationen einer erweiterten Analyse zu unterziehen.

---

Aufgrund dieses Kenntnisstandes und methodischer Möglichkeit kristallisierten sich für die vorliegende Arbeit folgende Fragestellungen heraus:

1. Ist die von Detilleux et al. (1995) und Franklin et al. (2005) mitgeteilte Reduktion von IgG in der fortgeschrittenen Trockenstehperiode als ein allgemein gültiges Phänomen anzusehen oder beschränkt es sich nur auf einzelne Individuen?  
Ab welchem Zeitpunkt ist, falls dies alle Tiere betrifft, mit einer Depression der IgG-Konzentrationen im Trockenstehstadium zu rechnen?
2. Wie verlaufen die humoralen IgM-Titer in der antepartalen und peripartalen Periode?
3. Besteht eine Korrelation zwischen antepartalen sowie intrapartalen humoralen Immunglobulingehalten und denen im Kolostrum?
4. Gibt es Zusammenhänge zwischen humoralen Immunglobulingehalten und Kortisolkonzentrationen sowie zwischen humoralen Immunglobulingehalten und dem Verlauf der Leukozytenkonzentrationen?
5. Stehen postpartale Störungen in Beziehung zum humoralen Immunglobulinstatus?

## **2. Schrifttum**

### **2.1 Humorale und zelluläre Immunität**

#### **2.1.1 Aufgaben der humoralen und zellulären Abwehrmechanismen**

Das Immunsystem bei Säugetieren besteht aus einer humoralen und einer zellulären Komponente, dessen Grundaufgabe es ist, körperfremde Strukturen von körpereigenen zu unterscheiden. Humorale Faktoren stellen die B-Lymphozyten, die Immunglobuline, das Komplementsystem, Lysozym, Properdin sowie die von Immunzellen synthetisierten Interleukine dar. Zu den zellulären Faktoren werden die T-Lymphozyten, die mononukleären Makrophagen und die polymorphkernigen Granulozyten gezählt. Hierdurch werden Strukturen, sobald diese als körperfremd erkannt werden, mittels Neutralisierung und anschließender Metabolisierung unschädlich gemacht.

#### **2.1.2 B-Lymphozyten**

Die B-Zellreifung ist mit dem Erwerb antigenspezifischer Rezeptoren verbunden, welche sich strukturell von denen der T-Lymphozyten unterscheiden. Sie bestehen aus membranverankerten Antikörpern. Jede B-Zelle kann nur einen bestimmten Antikörpertyp, der den Antigenrezeptor bildet, exprimieren. Der Erwerb antigenspezifischer Rezeptoren erfolgt in bestimmten B-Zell-Reifungsorganen. Diese werden bei Vögeln durch die Bursa fabricii, bei Säugetieren durch das Knochenmark (engl. „bone marrow“) repräsentiert.

Jede B-Zelle unterscheidet sich von ihrer lymphoiden Stammzelle dahingehend, dass sie bereits vor jeglichem Antigenkontakt spezifische Antikörper als Rezeptoren in ihre Membran eingelagert hat. Dies wird durch ein Genrearrangement ermöglicht, welches die Produktion der Antigenrezeptoren ohne einen Stimulus erlaubt. Diese Antikörper entsprechen in ihrer Struktur IgM, unterscheiden sich jedoch von der sezernierten Form in einigen Punkten.

Vor dem Antigenkontakt ist die B-Zelle ruhend, was bedeutet, dass sie nicht teilungsaktiv ist. Trifft die B-Zelle auf ein receptorspezifisches Antigen, kommt es zur Interaktion. Dieses Rezeptor-Engagement ist Voraussetzung zur Teilung und Ausdifferenzierung der B-Zelle zu ihrer Endform, der Plasmazelle. Somit entstehen mehrere hundert Tochterzellen, welche Antikörper der betreffenden Antigenspezifität sezernieren. Daher wird dieser Vorgang als klonale Selektion bezeichnet, wodurch die Spezifität der humoralen Immunantwort in Zusammenhang mit dem Zustandekommen wirksamer Antikörperkonzentrationen gewährleistet wird.

Die Plasmazellen sind die immunglobulinsezernierenden Endformen der B-Zellen. Sie sind nicht mehr teilungsfähig und leben nur wenige Tage. Die Produktion der Immunglobuline macht den Großteil der Proteinbiosynthese aus. Die bei Erstkontakt gebildeten Antikörper gehören zur Klasse der IgM (Nossal et al., 1965).

Ein zentrales Merkmal des adaptiven, antigenspezifischen Immunsystems ist, einer wiederholten Antigenexposition mit einer beschleunigten und verstärkten Abwehrantwort zu begegnen. Dies beruht auf dem Prinzip der Vermittlung eines immunologischen Gedächtnisses. Hierbei kehren einige bereits aktivierte B-Lymphozyten wieder in den Ruhezustand zurück und werden so zu immunologischen Gedächtniszellen. Dies betrifft sowohl die B- als auch die T-Lymphozyten. Ein Teil der Gedächtniszellen vollzieht in der Ruhephase den so genannten Klassenswitch, wodurch bei erneutem Antigenkontakt IgG an Stelle von IgM produziert wird. Dadurch ist die Zweitreaktion, auch anamnestiche Reaktion genannt, wesentlich effektiver.

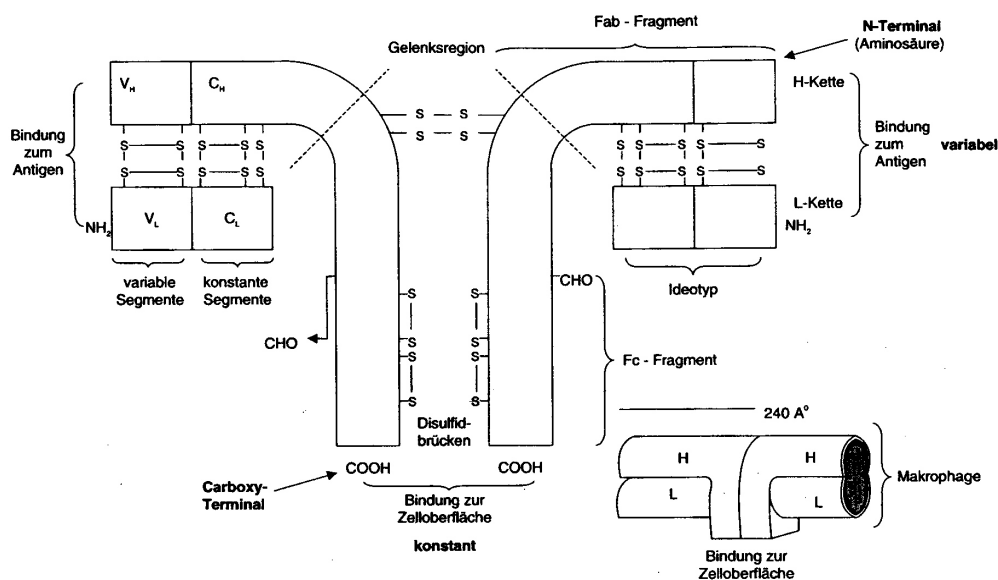
### **2.1.3 Immunglobulinklassen des Rindes und ihre Bedeutung**

Immunglobuline, auch als Antikörper bekannt, sind Glykoproteine, die aus paarweise angeordneten Polypeptidketten bestehen. Im Serum des Rindes sind bislang vier Immunglobulinklassen bekannt (Butler, 1969 und 1973; Mach und Pahud, 1971; Duncan et al., 1972). Eine Gruppe bilden die Immunglobuline G mit den drei Subpopulationen G<sub>1</sub>, G<sub>2a</sub> und G<sub>2b</sub>. Weitere Gruppen stellen das Immunglobulin M, das Immunglobulin A und das Immunglobulin E dar.

Die Immunglobuline sind bei der elektrophoretischen Auftrennung, aufgrund ihres unterschiedlichen Molekulargewichtes sowie ihrer differenten elektrischen Ladungen und

Sedimentationskonstanten, in verschiedenen Domänen zu finden. Liegen IgM und IgA in der  $\beta$ -Region, so gehört IgG2 in die  $\gamma$ -Region; IgG1 ist sowohl in der  $\beta$ -, als auch in der Gammaglobulinfraktion zu finden.

Alle Immunglobulinklassen unterliegen einem gemeinsamen Grundbaukonzept (*Grafik 1*). Sie bestehen grundsätzlich aus vier Polypeptidketten, wobei diese sich in mindestens zwei identische leichte Ketten (L-Kette, Molekulargewicht 25 kDa) und zwei identische schwere Ketten (H-Kette, Molekulargewicht 50-77 kDa) aufteilen. Die L-Ketten kommen in zwei Varianten, der lambda- ( $\lambda$ -) und der kappa- ( $\kappa$ -) Form, vor. Die beiden schweren Ketten sowie jeweils eine leichte und eine schwere Kette sind über Disulfidbrücken (kovalente Bindungen) miteinander verbunden (*Grafik 1*). Des Weiteren sind die Ketten zusätzlich durch nicht-kovalente Kräfte miteinander verbunden, wodurch sie sich zur typischen symmetrischen Y-Struktur zusammenfügen.



### Grafik 1: Struktur des Immunglobulins G (IgG)

(aus: Rolle, M.; Mayr, A. (2002): Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre)

Die Immunglobulinmoleküle werden durch das Enzym Papain proteolytisch in drei Fragmente gespalten: Zwei  $F_{ab}$ - und ein  $F_c$ -Fragment. Sowohl die L-, als auch die H-Ketten bestehen funktionell aus einem variablen und einem konstanten Anteil. Der variable Anteil der H- und L-Ketten in ihrer Kombination sind determinierend für die jeweilige Spezifität und bildet an seinem Aminosäuren- (N-) Terminal das  $F_{ab}$ -Stück ( $F_{ab}$  = Fragment antigen binding), welches mit dem Antigen reagiert. Die antigenbindenden Eigenschaften beruhen auf dem Zusammenspiel von Coulomb-Kräften, Wasserstoffbrücken- und hydrophoben Bindungen,

sowie Van der Waals-Wechselwirkungen (Gränzer, 1986). Der konstante Anteil der H-Kette trägt am Carboxyl- (C-) Terminal das F<sub>c</sub>-Stück. Das „c“ steht für „crystallizable“, da es die Fähigkeit hat auszukristallisieren. Allerdings ist es nicht in der Lage mit dem Antigen zu reagieren (Bourne und Newby, 1981). Das F<sub>c</sub>-Stück wird sowohl durch die Opsonisation an verschiedene Zellen des Immunsystems sowie durch Bindung an einige phagozytierende Zellen - beispielsweise Makrophagen - und an die erste Komponente des Komplementsystems biologisch aktiv.

Gemäß den Regeln der Kombinatorik, aber auch durch natürliche Punktmutation ist es möglich, eine Vielzahl von verschiedenen spezifischen Antikörpern mit einer geringen Zahl an Genen zu kodieren.

### **2.1.3.1 Immunglobulin G**

Immunglobuline der Klasse G sind kleine, monomere Proteine mit einem Molekulargewicht von 150 bis 180 kDa und einer Sedimentationskonstante von 7 Svedberg (S), was den Austritt dieser Immunglobuline aus den Blutgefäßen ermöglicht. Hierdurch können sie Immunreaktionen in Interzellularräumen, Körperhöhlen und auf der Körperoberfläche unterstützen. Des Weiteren sind die Immunglobuline der Klasse G mit einer Halbwertszeit von 16 bis 32 Tagen die am längsten zirkulierenden Immunglobuline beim Rind (Husband et al., 1972; Logan et al., 1972; Banks, 1982; Besser et al., 1988; Douglas et al., 1989).

Die Immunglobuline G stellen die größte Fraktion der Immunglobuline im bovinem Serum dar. Ihr Anteil liegt bei circa 86% der im Serum zirkulierenden Antikörper (Butler, 1973; Bourne et al., 1981). Sie befinden sich zu gleichen Teilen im extra- und intravasalem Raum. Von den drei Subklassen, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2a</sub> und IgG<sub>2b</sub>, repräsentiert das IgG<sub>1</sub> den weitaus größten Teil. IgG<sub>1</sub> wandert in der Gelelektrophorese schneller als IgG<sub>2</sub> und ist obendrein in der Immunelektrophorese zu unterscheiden.

Das IgG hat Bedeutung in der Antigen- und Endotoxinopsonierung, der Präzipitation, der Agglutination sowie, allerdings in untergeordneter Rolle, in der Aktivierung der Faktoren zur Initialisierung der Kaskade zur Komplementbildung. Jedoch agglutiniert das IgG<sub>2</sub> Fremdanigene besser als das IgG<sub>1</sub>. Zusätzlich ist IgG das entscheidende Immunglobulin für die so genannte Antigen-Antikörper-Reaktion, an deren Ende die Lyse von Fremdanigenen steht.



Die Elimination der Immunglobuline erfolgt in erster Linie über den Gastrointestinaltrakt, wodurch in etwa 68% der im Serum zirkulierenden IgG<sub>1</sub> ausgeschieden werden. So können die Antikörper die lokale Immunität unterstützen, indem sie dort an Antigene binden.

### **2.1.3.2 Immunglobulin M**

Das Immunglobulin M verkörpert die zweitgrößte Fraktion der Immunglobuline. Ihr Anteil liegt bei ungefähr 12% im bovinem Serum (Butler, 1973). Sein Molekulargewicht wird mit 955 bis 1.075 kDa angegeben, seine Sedimentationskonstante liegt bei 19 S (Duncan et al., 1972). Die Halbwertszeit im bovinem Serum beträgt zwischen 4,0 und 4,8 Tagen (Brandon et al., 1972; Logan et al., 1972; Banks, 1982).

Das IgM-Molekül stellt ein Polymer aus fünf an den F<sub>c</sub>-Stücken sternenförmig gebundenen Peptid-Grundeinheiten dar (Pentavalenz). Diese sind über Disulfidbrücken miteinander verbunden und gleichen dem Immunglobulin G. Damit besitzt ein IgM insgesamt zehn Antigenbindungsstellen. (Bourne et al., 1981). Zusätzlich enthält das Immunglobulin M die so genannte J-Kette (J = Join), wodurch das Makromolekül stabilisiert wird. Aufgrund seiner Größe kann es das Gefäßendothel nicht penetrieren und ist somit nur intravasal konzentriert.

IgM wird in durch Antigenkontakt zu Plasmazellen konvertierten B-Zellen als erster Antikörper produziert. Seine Aufgabe besteht in der Virusneutralisierung sowie in der Komplementaktivierung. Es dient ebenfalls der Opsonierung und Agglutination von Antigenen.

Eine Besonderheit liegt in dem Phänomen des „Klassenswitch“. Dies beruht auf dem Genrearrangement eines kleineren Teils der Plasmazellen nach erschöpfter Antikörperproduktion, während der größere Anteil in ein Ruhestadium übergeht. Dadurch wird nach erneutem Kontakt mit dem gleichen Antigen kein IgM produziert, sondern die Zellen sind jetzt in der Lage, unter Wahrung der Spezifität, Immunglobulin G in großer Menge zu produzieren. Die Folge ist eine Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit der spezifischen Immunantwort nach weiteren Antigenkontakten, wodurch eine schnellere Bekämpfung des Erregers erfolgen kann. Der Klassenswitch ist analog des Booster-Effektes eines der Phänomene, welche bei der Impfung von Nutzen sind.

### 2.1.3.3 Immunglobulin A

Das Immunglobulin A hat einen Anteil von etwa 2% des intravaskulären Pools (Butler, 1973). Hier liegt es als Monomer mit einer Sedimentationskonstante von 7 S und einem Molekulargewicht von 150 kDa vor (Duncan et al., 1972). Die Halbwertszeit des IgA im bovinem Blut liegt zwischen 2,5 und 2,8 Tagen (Logan et al., 1972; Banks, 1982). Dahingegen kommt es außerhalb des vaskulären Systems in Körpersekreten (Speichel, Tränen- und Nasensekret, muköse Sekrete der Lunge und des Magen-Darmtraktes, sowie Vaginalsekret und Samenflüssigkeit) und im Kolostrum, meist als Dimer und teilweise als trimere Struktur, vor. Dort ist es das dominierende Immunglobulin mit einem Molekulargewicht von 360 bis 385 kDa sowie einer Sedimentationskonstante von 11 bis 13 S und wird als so genannter „sekretorischer Antikörper“ bezeichnet (Mach und Pahud, 1971; Porter, 1971; Butler et al., 1972). Zusätzlich besitzt das IgA-Molekül ebenfalls eine J-Kette zur Stabilisierung. Das Immunglobulin A wird von in der Schleimhaut ansässigen submukösen Plasmazellen nach Antigenkontakt synthetisiert und sezerniert. Dieses hat in der Form eines Di- und auch Trimeres die Fähigkeit, durch Epi- und Endothelien zu diffundieren. Bei der Penetration der epithelialen Zellschichten bindet es aktiv an eine sekretorische Komponente, welche von den Epithelialzellen gebildet wird. Die gebundene sekretorische Komponente erleichtert einerseits den Transport des IgA ins Lumen, andererseits schützt sie auch das sekretorische Immunglobulin vor der Proteolyse durch körpereigene Enzyme (Schliesser, 1990; Roitt et al., 1995).

Das IgA ist ein wichtiger Teil der lokalen Immunität. Seine Aufgabe ist die Virusneutralisation und Agglutination. Somit schützt es die epithelialen Oberflächen vor der Anheftung und Kolonisation von pathogenen Mikroorganismen (Bourne und Newby, 1981). Hinzu bilden sie nach Verlust der Absorptionsfähigkeit der Darmschleimhaut von Neugeborenen eine primäre lokale Abwehrfunktion aus und haben somit eine Schlüsselfunktion bei der Muttertiervakzination.

### 2.1.3.4 Immunglobulin E

Das Immunglobulin E ist ein typisches, aus vier Ketten bestehendes Immunglobulin, welches von Plasmazellen synthetisiert wird und ein Molekulargewicht von 196 kDa, sowie eine

Sedimentationskonstante von 8 S hat (Duncan et al., 1972). Es kommt nur in äußerst geringer Konzentration im bovinem Blut vor und hat eine Halbwertszeit von zwei Tagen. Des Weiteren besitzt das IgE eine spezielle F<sub>c</sub>-Region, welche es befähigt, an basophile Granulozyten und Mastzellen zu binden. Dadurch werden aus diesen Zellen, nach Bindung des IgE, unter anderem vasoaktive und weitere Mediatoren freigesetzt. Somit dient das Immunglobulin E der Transduktion bei Überempfindlichkeitsreaktionen vom Typ 1. Zusätzlich ist es vermehrt bei Wurminfektionen nachweisbar.

Tabelle 1: Die wichtigsten Eigenschaften der bovinen Immunglobulinklassen  
(zusammengestellt nach verschiedenen Autoren)

Kriterium	IgG	IgM	IgA	IgE
Molekulargewicht in kDa	150 bis 180	955 bis 1.075	150 (Monomer) 360 bis 385	196
Struktur	monomer	pentamer	monomer und dimer	monomer
Sedimentationskonstante (S = Svedberg)	7	19	7 (Monomer) 11 bis 13	8
Halbwertszeit in Tagen	16 bis 32	4.0 bis 4.8	2,5 bis 2,8	2
Kompartimentverteilung	intra- und extravaskulär	intravaskulär	intra- und extravaskulär	auf Mastzellen und Basophilen
antivirale Aktivität	+++	mit Komplement	+++	-
antibakterielle Aktivität	+++	+++	++	-
Agglutinationsfähigkeit	+	+++	++	-
Komplementaktivierung	+	+++	-	(+)
Antitoxinwirkung	+++	-	-	-

### **2.1.4 Zelluläre Abwehr**

Die zweite Komponente der Immunität stellen die zellulären Abwehrmechanismen dar. Zu den zellulären Faktoren zählen insbesondere die T-Lymphozyten sowie die mononukleären Makrophagen und die polymorphkernigen Granulozyten.

#### **2.1.4.1 T-Lymphozyten**

T-Lymphozyten sind eine im Thymus geprägte Gruppe von Zellen, welche eine identische T-Rezeptorgrundstruktur haben. Sie spielen eine zentrale Rolle in der Abwehr. Unabhängig der Angehörigkeit zu den Subpopulationen ähnelt diese dem Aufbauprinzip antigenspezifischer Immunglobuline. So besteht der T-Zellrezeptor aus zwei, nicht identischen Polypeptidketten mit jeweils einem konstanten, membranständigen sowie einem variablen, peripheren Anteil, welche über Disulfidbrücken miteinander verbunden sind.

Gewisse T-Zellen sind zytotoxisch (T-Killerzellen), das heißt sie zerstören Zellen, auf deren Oberfläche sie Antigene erkennen. Im Weiteren sind T-Lymphozyten an der Steuerung der Antikörperproduktion beteiligt, ohne selbst Immunglobuline zu produzieren. Diese Wirkung wird über Interleukine (Interferon (IFN), Tumornekrosefaktor (TNF), diverse koloniestimulierende und –hemmende Faktoren (CSF/CIF)) - so genannte Kommunikationsproteine - erreicht, welche unter anderem Plasmazellen in ihrer Funktion modulieren. Andere T-Zellen (T-Helferzellen) wiederum aktivieren über Lymphokine Makrophagen und befähigen diese zur effizienten Abwehr.

Weiterhin weist die T-Zellpopulation eine Besonderheit in Form der assoziativen Erkennung auf. Diese beruht auf der MHC-Restriktion (MHC = Major Histocompatibility complex) des T-Zellrezeptors. Dies bedeutet, dass T-Lymphozyten nur dann dazu befähigt sind körperfremde Strukturen zu binden, wenn diese mit den so genannten Histokompatibilitätsantigenen (MHC) assoziiert sind, welche auf jeder kernhaltigen Zelle vorkommen. Die meisten Spezies haben sowohl mehrere MHC-Gene der Klasse 1 (MHC-1) als auch der Klasse 2 (MHC-2). Neben den majoren gibt es auch die minoren Histokompatibilitätsantigene, zu denen zum Beispiel das HY-Antigen männlicher Individuen gehört. MHC-Antigene dienen der sicheren Elimination von nicht körpereigenem Material.

Der T-Zellrezeptor erkennt ein Antigen niemals in freier Form, sondern nur in Verbindung mit einem MHC-Genprodukt. Eine T-Zelle, welche für das Peptid X in Assoziation mit MHC-Molekül A spezifisch ist, erkennt das Peptid X in Assoziation mit MHC-Molekül B ebenso wenig wie das Peptid Y in Assoziation mit MHC-Molekül A. Dieses Phänomen wird als MHC-Restriktion bezeichnet.

Obwohl der Thymus ein wichtiger Filter ist, der selbstreaktive T-Zellen eliminiert, sind in der Zellmembran weitere Oberflächenmarker eingebaut, die eine Autoreaktivität auch nach dem Verlassen des Thymus verhindern. Dies sind CD4- und CD8-Marker. Sie wirken als Co-Rezeptoren, wobei die T-Zellen während der Zellreifungsvorgänge im Thymus nach vorübergehender Exprimierung einen der beiden wieder abwerfen. Somit werden sie zu reifen CD4<sup>+</sup> T-Lymphozyten vom Helfertyp sowie zu reifen CD8<sup>+</sup> T-Lymphozyten vom Suppressor- oder zytotoxischem Typ, welche infizierte Zellen lysieren. Dabei interagieren jeweils CD4<sup>+</sup> Zellen selektiv mit MHC-2 Produkten und CD8<sup>+</sup> Zellen selektiv mit MHC-1 Produkten in Kombination mit dem Fremdantigen. Diese doppelte Bindung ist die Voraussetzung für eine Aktivierung der T-Lymphozyten. Weiterhin bedarf es einer Reihe von Kofaktoren, wie beispielsweise die Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3K) oder die Protein Phosphatase 2A (PP2A), zur Ausprägung einer adäquaten Immunantwort. Diese ermöglichen erst die massive extrazelluläre Nährstoffaufnahme, um den Bioenergiebedarf des stark zunehmenden Zellmetabolismus zu decken. Lymphozyten, welche solche Stimuli nicht erhalten, werden beseitigt (Casey et al., 2005).

## **2.2 Messverfahren zur Quantifizierung der Immunglobuline**

Für die quantitative Bestimmung der Immunglobuline gibt es zahlreiche verschiedene Methoden, welche allerdings aufgrund der methodischen Messfehler sehr stark differieren. Dies liegt nicht zuletzt an der Sensitivität der einzelnen Verfahren. So schwankt die Empfindlichkeit zwischen 20,0 µg Protein/ml bei der Immunelektrophorese (Carter et al., 1981) und 0,0005 µg Protein/ml beim ELISA (Bender, 2004).

### **2.2.1 Zinksulfattrübungstest (ZST)**

Der Zinksulfattrübungstest ist ein semiquantitatives Verfahren zur Bestimmung von Immunglobulinen. Erstmals wurde er von Aschaffenburg (1949) beschrieben und später von McEwan et al. (1970) modifiziert. Seine Funktion beruht auf der unspezifischen Fällung der Immunglobuline. Die hierdurch entstehende Trübung wird photometrisch bei 485nm im Spektrophotometer erfasst und ist direkt proportional zum Gesamtimmunglobulingehalt der Probe. Allerdings können die einzelnen Immunglobulinklassen nicht unterschieden werden.

Naylor und Kronfeld (1977) verglichen erstmals den ZST mit der sRid und beschrieben eine gute Korrelation in Bezug auf das Gesamtprotein, wobei jene zu den einzelnen Immunglobulinklassen als schlecht befunden wurden. Des Weiteren beschreibt Barber (1978) eine sehr hohe Korrelation in Bezug auf die Summe von IgG und IgM, verglichen mit der sRid. Zusätzlich wird der Zinksulfattrübungstest von Hancock (1985) in seiner Präzision als qualitativ gleichwertige Methode zur einfachen radialen Immundiffusion beschrieben. Der Vorteil des Zinksulfattrübungstestes ist, dass er einfacher und ökonomischer ist als der sRid, da wesentlich mehr Proben pro Zeiteinheit bearbeitet werden können.

### **2.2.2 Latexagglutinationstest (LAT)**

Beim Latexagglutinationstest kommen gegen bovines Immunglobulin G gerichtete Antikörper zum Einsatz. Diese sind an Latex- (Polystyrene-) Partikel gebunden und fällen die Immunglobuline gemäß des Prinzips der Antigen-Antikörperreaktion aus, wodurch diese makroskopisch sichtbar werden. Jedoch gibt es über die Sicherheit der Methode unterschiedliche Aussagen. Nach Andrews (1985) ist die Methode mit dem Zinksulfattrübungstest und der einfachen radialen Immundiffusion vergleichbar und liefert bei leichterem und einfacherem Handhabung ähnliche Ergebnisse. Dies bestreiten allerdings Caldwor et al. (1988) indirekt, da ihrer Untersuchung nach der LAT bei der Bestimmung des IgG<sub>1</sub> nur zu 64% mit dem Zinksulfattrübungstest übereinstimmt. Dagegen wird der LAT von White (1986) als ausreichend sensitiv für die Bestimmung der Immunglobuline beim Kalb bewertet.

### 2.2.3 Nephelometrie

Die Nephelometrie diene ursprünglich der Bestimmung von Proteinen im Liquor, Serum, Urin und in Gelenkpunktaten, da sie im Gegensatz zur radialen Immundiffusion nicht so zeitaufwendig ist. Das Prinzip beruht auf der Streuung eng gebündelten Lichtes beim Durchtritt einer durch Antigen-Antikörper-Komplexe getrübbten Lösung. Die Reaktionen laufen bei dieser Methode nicht an einem Trägermedium, sondern in einer Pufferlösung ab. Findet eine Antigen-Antikörper-Reaktion statt, so ist bei gleich bleibender Antikörperkonzentration die Anzahl und Größe der Präzipitatmenge der Lichtstreuung proportional (Lambrecht et al., 1982; Lambrecht und Petzold, 1984). Nach Lambrecht et al. (1982) beträgt der Korrelationskoeffizient zwischen der sRid und der Nephelometrie 0,94, was bedeutet, dass die Nephelometrie somit ebenfalls als exakte Methode gelten kann, wobei individuelle Ablesefehler weitgehend ausgeschlossen werden können.

### 2.2.4 Glutaraldehyd-Koagulationstest (GCT)

Das Testprinzip des GCT beruht auf der Reaktion von bifunktionellen Aldehyden mit der Aminogruppe des Lysins. Durch die dabei entstehenden intermolekularen Bindungen kommt es durch Ausfällung der Gammaglobuline zur Gelbildung. Die Dauer bis zum Eintritt der Gelbildung korreliert mit dem Immunglobulingehalt der Lösung. Allerdings reagiert der GCT mit allen Immunglobulinklassen und mit Fibrinogen. Jedoch kann die Beeinträchtigung durch das Fibrinogen durch die Verwendung von Serum anstelle von Plasma beseitigt werden. Des Weiteren bilden die IgG den weitaus größten Teil der Immunglobuline (ca. 86%) im bovinen Serum, wodurch Rückschlüsse von der Messung der Gesamtglobuline auf den Gehalt der IgG gezogen werden können.

Der Glutaraldehyd-Koagulationstest wird einerseits von verschiedenen Autoren als geeignete und praxisnahe Methode für die Bestimmung der Immunglobulinspiegel neugeborener Kälber bewertet (Tennant et al., 1979; Blom, 1982). Andererseits vertreten einige Autoren die Meinung, der GCT sei bezüglich seiner Spezifität und Empfindlichkeit zum Zwecke der IgG-Messung im Vollblut neonataler Kälber unzulänglich (Tyler et al., 1996a und b; Weaver et al.,

2000). Zudem kann es durch eine starke Hämolyse zu falsch positiven Ergebnissen kommen (Tennant et al., 1979; Hopkins et al., 1984; Rea et al., 1996; Tyler et al., 1996a).

### **2.2.5 Einfache radiale Immundiffusion (sRid)**

Die einfache radiale Immundiffusion wurde erstmals von Mancini et al. (1965) sowie von Fahey et al. (1965) beschrieben. Sie ist bis heute das in den Laboren am häufigsten verwendete Nachweisverfahren für Immunglobuline.

Hierbei wird in eine dünne Agarschicht, welche spezifische Antikörper gegen das zu quantifizierende Antigen enthält, ein Loch gestanzt. In dieses wird das Antigen eingebracht, worauf es gleichmäßig in die Peripherie diffundiert. Durch Reaktion mit den Antikörpern entstehen so genannte Antigen-Antikörper-Präzipitate, welche nach 24 bis 48 Stunden ihre größte Ausdehnung erreichen. Die Gesamtfläche der Präzipitate ist direkt proportional zur Antigenmenge und umgekehrt proportional zum Antikörpergehalt des Agars.

Die Nachweisgrenze liegt unter optimalen Bedingungen bei 0,05 µg Protein/ml (Gränzer, 1986). Jedoch mindert eine mangelhafte Reinheit der angewandten Antikörper die Monospezifität für die verschiedenen Immunglobulinklassen, welche spezifische Diffusions- und Präzipitationseigenschaften aufweisen. Ein entscheidender Nachteil dieser Methode ist jedoch, dass die Zeitspanne vom Ansetzen der Probe bis zum Ablesen der Resultate, in Abhängigkeit vom Ansatz, 24 bis 72 Stunden beträgt.

Weiterhin können bei zu engen Messbereichen Schwierigkeiten beim Verdünnen der zu untersuchenden Proben auftreten. Bei schwachen und unscharfen Ringen mit zu wenigen Antikörpern wird ein Waschen und Färben der Platten nötig (Lambrecht und Petzold, 1984).

### **2.2.6 Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)**

Der ELISA beruht auf einer Antigen-Antikörper-Reaktion, wobei über die kolorimetrisch erfasste Intensität der Farbreaktion eines enzymmarkierten Antikörpers die Antigenkonzentration bestimmt wird.

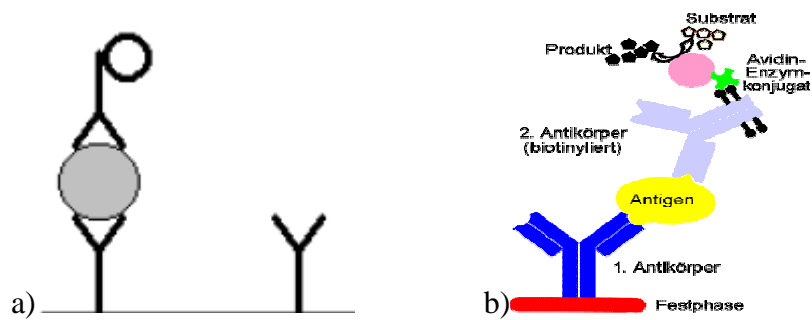


Der ELISA ist heutzutage ein etabliertes Testverfahren. Seine Grundstruktur wurde für den Nachweis von Immunglobulinen im Serum von Fohlen nach Warko und Bostedt (1993) aufgebaut und optimiert.

Auf dieser Grundlage entwickelten Stengel (1998) und Taday (1998) einen kompetitiven ELISA zur Bestimmung von bovinem IgG. Bender (2004) modifizierte und evaluierte diesen ELISA. Gleichzeitig entwickelte und evaluierte Bender (2004) einen kompetitiven ELISA zur Bestimmung von bovinem IgM. Dies ist eine äußerst präzise Methode womit der präkolostrale Immunglobulinnachweis von 0,002 mg/ml IgG, sowie der Höchstwert von 136,7 mg/ml IgG im Kolostrum gelang (Stengel, 1998; Bender, 2004; Bender und Bostedt, 2008). Die Sensitivität ist bei optimalen Versuchsbedingungen mit 0,0005 µg Protein/ml angegeben und somit dem sRID deutlich überlegen (Gränzer, 1986; Bender, 2004, Bender und Bostedt, 2008). Beide ELISA wurden auch von Lack (2006) zur Bestimmung der humoralen IgG- und IgM-Konzentrationen bei neonatalen Kälbern erfolgreich und zufrieden stellend angewandt.

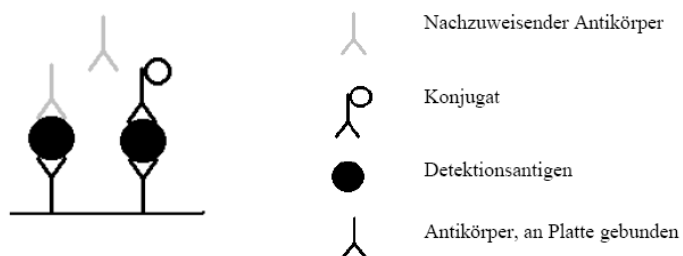
Erhard et al. (1999) präsentierten ihrerseits einen neuartigen ELISA, welcher im Stande ist zwischen IgG<sub>1</sub> und IgG<sub>2</sub> zu unterscheiden. Die Spezifität dieses ELISA ergibt sich aus der Verwendung von aus Hühnereigelb - nach intramuskulärer Immunisation der Hennen - gewonnenen anti-immunglobulingerichteten Antikörpern. Sie sind von hoher Qualität, einfach zu gewinnen und kommen bei der IgG<sub>2</sub>-Bestimmung zum Einsatz. Zur Detektion der gebundenen Antikörper wird enzymmarkiertes Protein G benutzt, da dies an IgG bindet.

Bei dem ELISA gibt es verschiedene Möglichkeiten der Methodik, die zu differenzieren sind. Zum einen gibt es den direkten ELISA. Hierbei ist der mit dem Antigen reagierende Antikörper enzymmarkiert (*Grafik 2*). Zum anderen gibt es den indirekten ELISA, auch Sandwich-ELISA genannt, bei dem der Primärantikörper auf der Festphase nicht markiert ist. Nach Bindung des Erstantikörpers an das Antigen erfolgt eine zweite Inkubation mit einem markierten Antikörper, der gegen den ersten gerichtet ist (*Grafik 2*). Aufgrund dessen ermöglicht der indirekte ELISA eine Amplifikation des Farbsignals und eine erhöhte Sensitivität. Allerdings ist dieser langsamer als der direkte ELISA, da eine zusätzliche Inkubation nötig ist.



Grafik 2: Prinzip des direkten (a) und indirekten (Sandwich-) ELISA (b)

Als weitere Möglichkeit gibt es den kompetitiven ELISA, bei dem enzymmarkierte Detektionsantikörper mit den nachzuweisenden Antikörpern, wie in diesem Falle den Immunglobulinen, um die Bindungsstellen auf der Festphase konkurrieren (*Grafik 3*). Somit ist das Farbsignal umgekehrt proportional zu der in der Probe vorliegenden Antikörperkonzentration.



Grafik 3: Prinzip des kompetitiven ELISA

Zurzeit gibt es sowohl einen kommerziell erhältlichen, semiquantitativen IgG-Schnelltest auf ELISA-Basis für Fohlen (Snap<sup>®</sup> Foal IgG Test, IDEXX GmbH, Wörrstadt) als auch einen semiquantitativen ELISA als Schnelltest zur Bestimmung von bovinem IgG im Plasma (Quick Test Calf IgG Kit, Midland Bioproducts Inc.). Mit diesem Schnelltest für Kälber kann man überprüfen, ob die Schwelle von 10 mg IgG/ml Plasma überschritten wird. Dieser wurde sowohl von Dawes et al. (2002) als auch von McVicker et al. (2002) evaluiert und als geeignet bewertet.

## **2.3 Bestimmende immunologische Parameter unter physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen in der prä- und postpartalen Phase**

### **2.3.1 Humorale Immunglobulingehalte im peripartalen Zeitraum**

Die Thematik der humoralen Abwehrsituation beim Milchrind wurde schon in den 60er, 70er und 80er Jahren des vergangenen Jahrhunderts aufgegriffen. Dabei war das Bemühen, den bovinen Immunstatus mit Messungen des humoralen Immunglobulinspiegels näher zu quantifizieren, Gegenstand verschiedener Publikationen (*Tab. 2*). Allerdings beziehen sich die bis zur Jahrtausendwende vorliegenden Messungen der Konzentrationen von IgG und IgM im bovinen Serum alle auf Kühe, deren Leistungsstadium und Reproduktionsphase nicht näher definiert wurden. Auffällig dabei sind die sehr differenten IgG-Gehalte von 18,9 mg/ml bis 30,0 mg/ml Serum und IgM-Werte von 2,6 mg/ml bis 8,6 mg/ml Serum (Klaus et al., 1969; Curtain et al., 1971; Brandon et al., 1971; Duncan et al., 1972; Butler, 1973; Norman et al., 1981).

Nicht beantwortet wurde mit diesen Untersuchungen, inwieweit das Geburtsgeschehen und der Verlauf der postpartalen Periode Einfluss auf diese Parameter haben. Die ersten indirekten Hinweise auf Veränderungen der humoralen Immunglobulinkonzentrationen in dieser Phase der Reproduktion sind jedoch bereits 1958 von Larson gegeben worden, gerieten aber in Vergessenheit. Er bestimmte mittels der Gelelektrophorese die Proteinfractionen zu verschiedenen Zeiten der reproduktiven Nutzung im Serum von 14 Fleisch- und Milchrindern. Dabei konnte Larson (1958) eine Abnahme der  $\gamma_1$ - und  $\beta_2$ -Konzentration im Serum von der sechsten Woche ante partum (a.p.) bis zur Geburt feststellen. Diese Globulinfraktionen waren im in der Trockenstehperiode gewonnenen Eutersekret am 45. Tag a.p. mittelmäßig und am dritten Tag a.p. - im Gegensatz zur normalen Kuhmilch - stark erhöht. Daher postulierte Larson (1958) erstmals einen Transfer der gemessenen Proteinfractionen in der Trockenstehperiode vom Blut des Rindes in das Euter.

Tabelle 2: Immunglobuline im Serum adulter Rinder, unabhängig vom Leistungsstand, nach verschiedenen Autoren (sRid = einfache radiale Immundiffusion, HF = Holstein Friesian)

Quelle	Ig-Gehalte in mg/ml	Rasse	Nachweismethode
Klaus et al. (1969)	IgG: 26,4	HF, Guernsey, Ayrshire	sRid
Curtain et al. (1971)	IgG <sub>1</sub> : 18,7 IgG <sub>2</sub> : 11,3	Hereford	Radioimmunoassay
Brandon et al. (1971)	IgG <sub>1</sub> : 18,7 IgG <sub>2</sub> : 11,3 IgM: 8,6 IgA: 0,6	nicht angegeben	sRid
Duncan et al. (1972)	IgG <sub>1</sub> : 11,4 IgG <sub>2</sub> : 9,9 IgM: 3,7 IgA: 0,3	HF	sRid
Butler (1973)	IgG <sub>1</sub> : 11,0 IgG <sub>2</sub> : 7,9 IgM: 2,6 IgA: 0,5	nicht angegeben	nicht angegeben
Norman et al. (1981)	IgG <sub>1</sub> : 19,3 IgM: 4,3	Hereford, Hereford gekreuzt mit Angus	sRid

Erst in der neueren Zeit sind zwei weitere Arbeiten erschienen, die diese Problematik wieder aufgriffen. In der Trockenstehperiode konnten Detilleux et al. (1995) ebenfalls eine Reduktion des humoralen IgG<sub>1</sub>-Levels um 62% (circa 6 auf 2 mg/ml) von der fünften Woche a.p. bis zum Partus feststellen. Auch nach den Resultaten von Franklin et al. (2005) kommt es von der vierten Woche a.p. bis zur Geburt hin zu einem kontinuierlichen Abfall der IgG<sub>1</sub>-Konzentration von  $10,2 \pm 0,9$  mg/ml auf  $3,3 \pm 0,7$  mg/ml intra partum (i.p.). Dies entspricht einer Reduktion um 67,6%. Dieser Abfall wird im Einklang mit Larson (1958) durch eine Akkumulation der IgG<sub>1</sub> im Kolostrum erklärt. Post partum (p.p.) kommt es wieder zu einem Anstieg der Konzentrationen. In der dritten Woche p.p. entsprechen die Konzentrationen denen fünf Wochen a.p. (Franklin et al., 2005). Die Laktationszahl hat dabei offenbar keinen signifikanten Einfluss auf die humorale IgG<sub>1</sub>-Konzentration (Franklin et al., 2005). Eine gegenläufige Tendenz zeigen jedoch die IgG<sub>2</sub>-Titer, welche von  $13,5 \pm 1,3$  mg/ml vier Wochen a.p. bis zur Geburt auf  $15,7 \pm 1,8$  mg/dl ansteigen (Franklin et al., 2005). Die IgG<sub>2</sub>-Konzentrationen bleiben nach Detilleux et al. (1995) antepartal auf konstantem Niveau (um 1,4 mg/ml) und steigen erst p.p. auf Werte an, welche etwa 20% höher liegen als die

Ausgangswerte. Hieraus ist ersichtlich, dass einerseits die angegebenen Werte sehr stark differieren und andererseits die IgG<sub>1</sub>- und IgG<sub>2</sub>-Konzentrationen einen unterschiedlichen Verlauf nehmen. Weiterhin unbekannt bleibt, ab wann sich die humoralen IgG-Titer in der Phase der Trockenstellung (etwa acht Wochen a.p.) progressiv verringern.

Differenzen bestehen auch hinsichtlich des Verhaltens der humoralen Immunglobulinkonzentrationen in der peripartalen Periode. Nach Franklin et al. (2005) bleiben die IgM- und IgA-Konzentration von der vierten Woche a.p. bis zur Geburt nahezu konstant auf Werten um 3,2 mg/ml (IgM) respektive 0,14 mg/ml (IgA). Dahingegen beschreiben Detilleux et al. (1995) eine tendenzielle Abnahme der humoralen IgM-Konzentration von der 5. Woche a.p. bis in die peripartale Zeit (von etwa 2,8 mg/ml auf 2,5 mg/ml;  $p > 0,05$ ). In der vierten Woche post partum liegen die IgM-Titer circa 7% (2,4 mg/ml) unter denen in der fünften Woche ante partum. Danach kommt es bis zum Ende der Studie (5. Woche p.p.) wieder zu einem statistisch nicht signifikanten Anstieg der IgM-Titer auf etwa 2,6 mg/ml. Auch hier ist erkennbar, dass sowohl die angegebenen Konzentrationen als auch die Verläufe der IgM-Konzentrationen in beiden Studien sehr different sind. Zusätzlich liegen über den postpartalen Verlauf der IgM-Konzentrationen nur die Angaben von Detilleux et al. (1995) vor. Jedoch scheint gerade die Erweiterung der Kenntnisse über den postpartalen Verlauf der IgM-Titer notwendig, da IgM ein Pentamer ist, welches das Phänomen des „Klassenswitch“ zeigt und bei der Immunantwort, insbesondere bei Erstkontakt mit einem Antigen, eine äußerst wichtige Rolle spielt. Analog zur Beschreibung der IgG-Konzentrationsänderungen bleibt auch hier die Frage offen, auf welchem Niveau sich die humoralen IgM-Titer zum Zeitpunkt der Trockenstellung bewegen und wie sie im Weiteren verlaufen.

Detilleux et al. (1995) hatten für ihre Studie zwar ein großes Probandenaufkommen von 137 Rindern der Rasse Holstein Friesian, jedoch bestimmten sie die humoralen IgM-, IgG<sub>1</sub>- und IgG<sub>2</sub>-Konzentrationen mittels der radialen Immundiffusion. Aufgrund der bereits angeführten Nachteile und Schwächen des sRid gegenüber dem kompetitiven ELISA sowie der methodischen Fehler des sRid, müssen die angegebenen Werte kritisch betrachtet werden.

Franklin et al. (2005) führten ihre Studie an 30 Rindern der Rasse Holstein Friesian und 20 Rindern der Rasse Jersey durch. Hauptziel der Arbeit war es, die unterstützende Wirkung der Mannan-Oligosaccharide (MOS) auf das Immunsystem der Rinder in den letzten drei Wochen

der Trockenstehperiode und damit der passiven Immunisierung der bovinen Neonaten zu evaluieren und nicht die humoralen Immunglobulinkonzentrationen im peripartalen Zeitraum zu quantifizieren. MOS binden an Kollektine, welche als Opsonine wirken, wodurch sie die Phagozytoseaktivität des Immunsystems erhöhen und das Komplementsystem aktivieren. Für die Evaluierung wurden, neben den humoralen IgG<sub>1</sub>-, IgG<sub>2</sub>-, IgM- und IgA-Konzentrationen, die Serum-Titer an neutralisierenden Antikörpern gegen Rotaviren in der Kontrollgruppe und der mit MOS supplementierten Gruppe verglichen. Um die Immunantwort zu quantifizieren wurden sowohl die Rinder der Kontroll- als auch der Versuchsgruppe in der vierten und der zweiten Woche a.p. mit Vakzinen gegen Rotaviren, Coronaviren und E. coli geimpft. Daher können die angegebenen Konzentrationen der humoralen Immunglobulinkonzentrationen keinesfalls als Referenzwerte angesehen werden. Weiterhin bleibt fraglich, ob der präpartale Abfall der IgG<sub>1</sub>-Konzentration nicht auf eine physiologische Reduzierung der Antikörperproduktion nach stattgefundener Immunantwort zurückzuführen ist. In gleicher Weise kann der Anstieg der IgG<sub>2</sub>-Titer eine physiologische Konsequenz der Impfung sein. Ein weiterer kritischer Punkt dieser Studie ist, dass auch hierbei die humoralen Immunglobulintiter mittels der radialen Immundiffusion bestimmt wurden.

Bei Durchsicht der Literatur fiel auf, dass es tierartliche Unterschiede im peripartalen Verlauf der Immunglobulinkonzentrationen zu geben scheint. So bleiben beispielsweise bei Warmblutstuten im Gegensatz zu Milchrindern die IgG-Konzentrationen von sieben Tagen a.p. bis 96 Stunden p.p. konstant auf Werten zwischen 33,55 mg/ml und 35,78 mg/ml (Warko und Bostedt, 1993). Dies deckt sich mit den Beobachtungen von Eisenhauer (1981), die keinen wesentlichen Abfall der IgG-Gehalte von der Geburt bis eine Woche p.p. feststellte. Im Gegensatz dazu stehen Ergebnisse einer Verlaufsuntersuchung des Gammaglobulingehaltes im Blutserum tragender Shetland-Ponys von Jeffcott (1974). Dieser beschreibt einen Abfall der Gammaglobulinkonzentration von circa 11,00 mg/ml in der Zeit von zwei bis drei Wochen ante partum bis drei Wochen post partum, wo mit 9,70 mg/ml ein Minimum erreicht wurde.

Die humoralen Immunglobulinkonzentrationen werden zusätzlich durch verschiedene Faktoren beeinflusst. So hat beispielsweise das Vitamin A eine große Bedeutung für das Immunsystem. Es ist an der Signaltransduktion beteiligt. Vitamin A wird im Zytoplasma der Zellen an zelluläre Transportproteine gebunden, durch Enzyme in die Vitamin-A-Säure

(Retinsäure) überführt und danach mit Hilfe von Rezeptorproteinen in die Zellkerne transportiert. Diese mit einem Retinsäuremolekül beladenen Rezeptoren haben eine Bindungsstelle zur Anlagerung an bestimmte Gene und erhöhen so die Transkriptionsrate. Bei einem Mangel von Vitamin A kommt es daher zur verminderten Bildung von Aktivoren für das Immunsystem. Dies hat eine Herabsetzung der Vermehrungsrate von B- und T-Lymphozyten und somit eine Hemmung der Bildung von Antikörpern zur Folge (siehe Literaturverzeichnis: Kolb, 1995).

Weiterhin werden die humoralen IgG- und IgM-Titer entscheidend durch die Schilddrüsenhormone  $T_3$  (Trijodthyronin) und  $T_4$  (Thyroxin) moduliert.  $T_4$  wird in der Schilddrüse produziert und nach Sekretion in das intravasale System durch partielle Dejodierung in die biologisch aktive Form des  $T_3$  überführt. Dieses  $T_3$  erhöht die „turn-over“-Rate und steigert somit den Proteinmetabolismus, in dem es die Transkriptionsrate moduliert, wodurch spezifische Enzyme synthetisiert werden (Bernal und Refetoff, 1977). Dadurch wird in der Folge auch die vermehrte Antikörperproduktion angeregt. Gerade zum Geburtszeitpunkt haben Fleischrinder der Rasse Angus und Kreuzungstiere daraus nach Awadeh et al. (1998) signifikant höhere Plasmakonzentrationen an  $T_3$  (1,03 ng/ml) und  $T_4$  (38,4 ng/ml) als im dritten und neunten Monat post partum ( $T_3$ : 0,85 bis 0,87 ng/ml;  $T_4$ : 22,3 bis 36,5 ng/ml). Jedoch ist im dritten Monat p.p. der Quotient aus  $T_3$ : $T_4$  erhöht (0,04). Dies bedeutet, dass im Verhältnis mehr  $T_3$  vorhanden ist als zum Geburtszeitpunkt (Quotient: 0,025) oder neun Monate p.p. (Quotient: 0,024).

Diese Plasmagehalte an  $T_3$  und  $T_4$  werden jedoch maßgeblich durch die Menge an Selen im Futtermittel beeinflusst. Ein Selenmangel führt zu signifikanten Erniedrigungen der  $T_3$ -Konzentrationen bei Kühen mit gleichzeitiger Erhöhung der  $T_4$ -Konzentrationen (Awadeh et al., 1998). Begründet wird dies mit der Tatsache, dass Selen Bestandteil des Enzyms Dejodase ist, welches das  $T_4$  in das  $T_3$  konvertiert (Beckett et al., 1987). Diese Ergebnisse von Beckett et al. (1987) stammen allerdings aus Versuchen an Ratten, wurden aber für das Rind kritiklos übernommen. Ob ein Mangel an Selen auch bei Rindern zu einer verminderten  $T_3$ -Konzentration, respektive zu einer Reduktion der humoralen und kolostralen IgG- und IgM-Konzentrationen führt, ist daher als offene Frage zu bezeichnen. Fraglich bleibt weiterhin ob die Ergebnisse von Awadeh et al. (1998) auf das Milchrind übertragbar sind. Dagegen stehen nämlich die Forschungsergebnisse von Otto (2003). Sie evaluierte den Thyreoidstatus von 449 Milchkühen der Rasse Deutsche Schwarzbunte in 39 Betrieben. Allerdings wurden die  $T_3$ -Konzentrationen dabei nicht bestimmt. Otto (2003) ermittelte eine durchschnittliche

Thyroxinkonzentration von  $73,0 \pm 20,0$  ng/ml. Weiterhin beschreibt sie eine kontinuierliche Zunahme der T<sub>4</sub>-Konzentration mit fortschreitender Dauer der Gravidität. In der Zeit von über 200 Tagen vor dem Partus liegen die T<sub>4</sub>-Gehalte im Serum bei  $78,8 \pm 2,4$  ng/ml und im Intervall zwischen dem 100. und 199. Tag a.p. bei  $82,6 \pm 2,6$  ng/ml. Maximale Werte werden in den letzten 100 Tagen der Trächtigkeit mit  $84,2 \pm 2,6$  ng/ml erreicht. Diese Werte sind signifikant höher als die T<sub>4</sub>-Serumgehalte in der postpartalen Periode. Im post-partum-Intervall  $\leq 30$  Tagen fällt das Serumthyroxin auf minimale Konzentrationen von  $63,4 \pm 3,1$  ng/ml. Anschließend folgt ein kontinuierlicher Anstieg mit zunehmendem zeitlichem Abstand zum Partus bis auf Werte von  $76,0 \pm 3,2$  ng/ml in der Zeit  $> 155$  Tage p.p. (Otto, 2003). Dies bedeutet, dass der erniedrigte Gehalt des Serumthyroxins in der frühen postpartalen Periode bei Milchrindern eine verminderte Proteinbiosynthese zur Folge hat. Inwieweit dieses Ergebnis auch eine verminderte Antikörperproduktion nach sich zieht, lässt sich nicht eindeutig beantworten, weil diesbezügliche Untersuchungen bislang fehlen.

### 2.3.2 Kolostraler Immunglobulingehalt

Die Bedeutung der Kolostralmilch für die Bildung der passiven Immunität, der Energieversorgung und Supplementierung mit Vitaminen sowie Oligoelementen beim neugeborenen Kalb ist schon lange bekannt (Larson, 1972; Clover und Zarkower., 1980; Radostits et al., 1980). Sie enthält neben den Immunglobulinen G, M und A auch Leukozyten, Lysozym, Interleukine, Komplementfaktoren sowie andere Serumproteine, welche sich im Verlauf der Trockenstehperiode im Euter akkumulieren (Foley et al., 1978). Während der IgG<sub>2</sub>-Gehalt im Kolostrum des Rindes am geringsten ist (5%), bildet die IgG<sub>1</sub>-Subpopulation den größten Anteil mit circa 81% (Tab. 3). Die IgA und IgM sind nur mit einem sehr geringen Anteil von 7% vorhanden (Butler, 1973). Weiterhin werden mit der Fraktion der IgG signifikante Mengen an Antikörpern gegen das Shiga-like Toxin I transferiert (Pirro, 1993).

Allerdings variieren die Mengenangaben der Gehalte an Immunglobulinen im Kolostrum bei verschiedenen Autoren sehr stark (Tab. 3). Diese enormen Variationen der Immunglobulinmengen könnten zum Teil als genetisch determiniert, zum Teil als methodenbedingt betrachtet werden. So stellten Schultz et al. (1971) fest, dass Vertreter der Rassen Schweizer Braunvieh und Jersey signifikant höhere Ig-Konzentrationen im Kolostrum



als Holstein Friesian aufweisen, wobei Holstein Friesian generell niedrige kolostrale Immunglobulingehalte haben (Guy et al., 1994; Tyler et al., 1999). Diese Ergebnisse wurden von Muller und Ellinger (1981) für das Jersey-Rind bestätigt. Jedoch kann die Genetik nicht allein die eklatanten Unterschiede der Antikörperkonzentrationen im Kolostrum erklären, weil solche auch innerhalb der Rassen bestehen.

Tabelle 3: Kolostrale Immunglobulingehalte nach verschiedenen Autoren

(sRid = einfache radiale Immundiffusion; HF = Holstein Friesian)

Quelle	Ig-Gehalte in mg/ml	Rasse	Nachweismethode
Brandon et al. (1971)	IgG <sub>1</sub> : 79,2 IgG <sub>2</sub> : 5,2 IgM: 10,7 IgA: 6,9	HF, Ayrshire	sRid
Porter (1971)	IgG <sub>1</sub> : 43,2 IgG <sub>2</sub> : 1,5 IgM: 3,5 IgA: 1,7	Ayrshire	sRid
Husband et al. (1972)	IgG <sub>1</sub> : 48,2 IgG <sub>2</sub> : 4,0 IgM: 7,1 IgA: 4,7	HF, Ayrshire	sRid
Wilson et al. (1972)	IgG <sub>1</sub> : 34,0 IgG <sub>2</sub> : 3,5 IgM: 3,9 IgA: 1,7	Jersey	sRid
Butler (1973)	IgG <sub>1</sub> : 47,6 IgG <sub>2</sub> : 6,1 IgM: 4,2 IgA: 3,9	nicht angegeben	nicht angegeben
Lambrecht et al. (1982)	IgG: 53,6 IgM: 4,8 IgA: 9,5	DSB	Nephelometrie
Eigenmann et al. (1983)	IgG: 104,0	DSB, DRB	sRid
Besser et al. (1991)	IgG <sub>1</sub> : 49,5	HF	sRid
Awadeh et al. 1997	IgG: 50-150	Angus, Kreuzungen	sRid
Stengel (1998)	IgG: 32,3	HF, Rotvieh, Charolais, DFV, Kreuzungen	ELISA
Bender (2004)	IgG <sub>Färsen</sub> : 20,1 IgG <sub>Pluripara</sub> : 24,5 IgM <sub>Färsen</sub> : 5,3 IgM <sub>Pluripara</sub> : 5,2	HF, DFV, Kreuzungen	ELISA

Zusätzlich wird der Immunglobulingehalt des Kolostrums von vielen genetisch unabhängigen Faktoren beeinflusst. So ermittelte Stengel (1998) mittels kompetitivem ELISA, IgG-Gehalte von 3,5 mg/ml bis 136,7 mg/ml im Kolostrum von Kühen der Rasse Deutsch Schwarzbunte und Deutsch Rotbunte. Bender und Bostedt (2008) stellten dagegen ebenso bei Kühen der Rasse Holstein Friesian mit derselben Methode insgesamt niedrigere IgG-Konzentrationen von 8,2 mg/ml bis 75,5 mg/ml Kolostrum fest. Weiterhin ermittelten Bender und Bostedt (2008) eine IgM-Konzentration von 5,4 mg/ml Kolostrum im geometrischen Mittel. Fraglich ist, warum diese angegebenen Werte trotz der gleichen Methodik so stark differieren. Allerdings wurden auch in diesen Arbeiten die Verläufe der Geburt (Eutokie/Dystokie) und der postpartalen Periode (gestört/ungestört) nicht berücksichtigt. Diese Einflüsse könnten ein Grund für diese großen Diskrepanzen sein. Dies zu klären, bedarf noch einiger Forschungsarbeit.

Auch soll beispielsweise der Immunglobulingehalt des Kolostrums von der Anzahl der Laktationsperioden abhängig sein (Lambrecht et al., 1982; Pritchett et al., 1991; Shearer et al., 1992). Nach Pritchett et al. (1991) steigen die IgG-Gehalte bis zur vierten Laktation stetig an, während sich die IgM-Konzentration bis zur fünften Laktation erhöhen und sich dann auf einem Niveau einpendeln. Im Gegensatz dazu ermittelten Bender und Bostedt (2008) in ihrer Untersuchung an HF-Kühen den niedrigsten Immunglobulingehalt von 8,2 mg/ml Kolostrum bei einer sechsjährigen Kuh und die höchste Immunglobulinkonzentration von 75,5 mg/ml bei einer Färse. Auch Franklin et al. (2005) konnten keinen Einfluss der Laktationszahl auf die IgG<sub>1</sub>-Konzentration nachweisen. Dagegen steht auch das Postulat von Mechor et al. (1992), welche keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der IgG-Konzentration und der Laktationszahl feststellen konnten. Auch hier ist erkennbar, dass es eklatante Unterschiede in den Konzentrationen der Immunglobuline gibt. Bis dato nicht zu klären ist die Frage, wie es sein kann, dass bei einzelnen Färsen äußerst hohe Immunglobulinkonzentrationen von 75,5 mg/ml und vereinzelt bei alten pluriparen Kühen nur Werte von 8,2 mg/ml gemessen werden. Weiterhin hat das Erstkalbealter nach Lambrecht et al. (1982) keinen Einfluss auf den kolostralen Immunglobulingehalt. Jedoch ist Erstkolostrum, welches im Winterhalbjahr gebildet wird, stets reicher an IgG als jenes des Sommerhalbjahres (Lambrecht et al.; 1982; Schmidt et al., 1982).

Darüber hinaus wird offenbar die Ig-Konzentration des Kolostrums entscheidend durch die Menge des Erstgemelks determiniert. Je mehr Erstkolostrum zu ermelken ist, desto geringer ist die Konzentration an Immunglobulinen darin (Pritchett et al., 1991). Zusätzlich korreliert

der Gehalt der Immunglobuline im Kolostrum negativ mit der Länge der Trockenstehperiode (Besser et al., 1991; Pritchett et al., 1991). Dies ist mit der Tatsache zu erklären, dass zwischen der Menge des Erstkolostrums und der Länge der Trockenstehperiode eine positive Korrelation besteht (Pritchett et al., 1991). Bei Färsen kann keine Aussage zur Korrelation zwischen der Länge der Trockenstehperiode und der Menge des Erstkolostrums getroffen werden, da sie zum ersten Mal laktierend werden. Dahingegen stellte Stengel (1998) einen IgG-Gehalt von 78,1 mg/ml Kolostrum bei einer Kuh mit einer Graviditätsdauer von 268 Tagen und eine IgG-Konzentration von 44,0 mg/ml als auch von 79,8 mg/ml bei zwei anderen Kühen nach einer Trächtigkeitslänge von 295 Tagen fest. Auch diese Fakten können nach dem derzeitigen Stand der Wissenschaft nicht erklärt werden.

Einen weiteren erheblichen Einfluss auf die kolostrale IgG-Konzentration hat der Zeitpunkt, zu dem es post partum ermolken wird. Kolostralmilch, welche erst sechs, zehn oder 14 Stunden p.p. gewonnen wird, hat bereits signifikant niedrigere Immunglobulingehalte als solche, welche zwei Stunden p.p. ermolken wird (Moore et al., 2005). So stellten bereits Butler et al. (1972) einen signifikanten Unterschied zwischen dem ante- und postpartalen Gehalt der Immunglobuline in der Milch und im Blutserum fest. Während die IgA-Konzentration vor dem Partus bei  $1,83 \pm 1,9$  mg/ml in der Milch und  $0,10 \pm 0,04$  mg/ml im Serum liegt, beträgt der präpartale IgG-Gehalt  $35,4 \pm 21,1$  mg/ml in der Milch und  $20,3 \pm 4,6$  mg/ml im Serum. Die IgG<sub>1</sub>-Konzentration ist mit  $31,6 \pm 19,3$  mg/ml in der Milch und mit  $10,7 \pm 5,7$  mg/ml im Blutserum angegeben. Postpartal wurden in der Milch sowohl ein Abfall der IgA- (auf  $0,23 \pm 0,4$  mg/ml) als auch der IgG- (auf  $< 2$  mg/ml) und der IgG<sub>1</sub>-Konzentration (auf  $1,38 \pm 1,9$  mg/ml) festgestellt. Im Serum zeigte sich ebenfalls ein Abfall des IgA-Gehaltes auf  $0,06 \pm 0,04$  mg/ml. Dagegen stiegen die IgG-Konzentrationen im Serum post partum auf  $26,4 \pm 7,3$  mg/ml und der IgG<sub>1</sub>-Gehalt auf  $12,9 \pm 6,1$  mg/ml an (Butler et al., 1972).

Weiterhin beschreibt Larson (1958) einen präpartalen Abfall der humoralen Immunglobulinkonzentration bei gleichzeitigem Anstieg dieser im Kolostrum. Detilleux et al. (1995) und Franklin et al. (2005) erklären den präpartalen Abfall des humoralen IgG<sub>1</sub> mit einer Kompartimentierung der Immunglobuline zur Anreicherung im Euter. Diese Akkumulation führt zu Immunglobulinkonzentrationen im Euter, die höher sind als jene im intravasalen System (Barrington et al., 1997). Die Auswirkungen dieser Kompartimentierung der Immunglobuline auf das maternale Immunsystem und die daraus eventuell resultierenden Folgen wurden jedoch nicht berücksichtigt.

Einen erheblichen negativen Einfluss auf den intrapartalen kolostralen Immunglobulingehalt hat die Zurückhaltung der Secundinae. So kamen Lona et al. (2001) in ihrer Studie mit 27 Kühen der Rasse Holstein Friesian zu dem Ergebnis, dass der kolostrale Immunglobulingehalt bei Rindern mit einer Retentio secundinarum mit  $7,58 \pm 6,72$  g/l signifikant niedriger ist als bei Kühen ohne Zurückhaltung der Sekundine mit  $15,13 \pm 8,56$  g/l Kolostrum. Jedoch wurden die Immunglobuline von Lona et al. (2001) nur in der Milch bestimmt, wodurch keine Aussage über den humoralen Status und den Einfluss einer Retentio secundinarum darauf möglich ist.

Eine subklinische Mastitis zum Abkalbetermin hat nach Maunsell et al. (1998) keinen Einfluss auf die kolostrale Immunglobulinkonzentration.

### **2.3.3 Serum-Kortisolkonzentrationen im peripartalen Zeitraum**

Neben den die Geburt und die postpartale Periode direkt steuernden endokrinen Mechanismen, kommt es zu symptomatischen und nicht kausal einzustufenden hormonellen Veränderungen. Diese spiegeln unter anderem die auf das Muttertier einwirkenden endogenen und exogenen Stressoren wider. Hierzu gehören insbesondere die Glukokortikoide, die Endorphine und die Katecholamine. Bereits im letzten Trimester der Gravidität ist, durch die in der Hochträchtigkeit und unter der Geburt veränderte Stoffwechsellage sowie durch die psychischen und physischen Belastungen, eine vermehrte Freisetzung von ACTH und Kortikoiden nachweisbar (Hudson et al., 1975b; Paterson, 1957).

Des Weiteren kommt es sub partu zu einer Konzentrationserhöhung der Glukokortikoide im Plasma. Beim Fetus bestehen sehr hohe Kortisolwerte ( $94 \pm 9$  ng/ml (Comline et al., 1974) bis  $123,5$  ng/ml (Hudson et al., 1975b)). Dahingegen schwanken die Literaturangaben über die maternalen Konzentrationen unter der Geburt zwischen  $8,5$  bis  $19,2$  ng/ml (Heuwieser et al., 1987). Hoffmann et al. (1973) ermittelten intrapartal die höchsten Kortikosteroidkonzentrationen bei Spontangeburt. Diese befanden sich 50 Stunden a.p. noch auf dem Basalniveau von  $3$  bis  $4$  ng/ml und stiegen dann bis zum Partus an und waren unter der Geburt um das Zwei- bis Dreifache erhöht. Schon 15 Stunden post partum erreichten die Werte wieder das Basalniveau. Analog dazu konnten auch Hudson et al. (1975b) einen signifikanten Anstieg der maternalen Kortisolwerte um 200% von  $6,2$  ng/ml 48 Stunden a.p. auf  $17,3$  ng/ml zum Geburtsbeginn nachweisen. Jedoch fielen die Kortisolkonzentrationen bei

Hudson et al. (1975b) bereits eine halbe Stunde post partum um 44% auf 11,2 ng/ml ab, erreichten aber, im Gegensatz zu Hoffmann et al. (1973), erst am dritten Tag post partum wieder ihre Basalwerte. Fraglich bleibt daher, wie es zu dieser hohen Diskrepanz im zeitlichen Verlauf p.p. kommt. Der Probenentnahmerhythmus und die Messmethode kann dies nicht allein erklären, da bei beiden Autorengruppen die Proben sehr engmaschig im Abstand von sechs bis zwölf Stunden genommen wurden. Allerdings nahmen Hudson et al. (1975b) um die Geburt noch zusätzliche Proben. Auch die Nachweismethode des Kortisols war bei beiden Forschergruppen gleich (Kortisolbestimmung nach Murphy 1967). Der Unterschied ist eventuell rassebedingt, da Hoffmann et al. (1973) ihre Studie an neun Kühen der Rasse Brown Swiss sowie Simmentaler im Alter von vier bis zwölf Jahren und Hudson et al. (1975b) ihre an 20 Milchkühen der Rasse Jersey und Jersey gekreuzt mit Friesian durchführten. Als Erklärung könnte deshalb angenommen werden, dass Milchrinder, hier repräsentiert durch die Rassen Jersey und Jersey gekreuzt mit Friesian, durch die beginnende hohe Milchleistung eine enorme Belastung erfahren, welche sich in der länger andauernden Erhöhung des endogenen Stressors Kortisol widerspiegelt.

Der Mechanismus des Einflusses der Kortikosteroide auf das Immunsystem basiert auf der Tatsache, dass Kortisol an intrazelluläre zytoplasmatische Rezeptoren bindet und so durch Interaktion mit dem Zellgenom die Interleukinproduktion hemmt. Dies hat eine Involution der lymphatischen Organe zur Folge, wodurch der zelluläre Stoffwechsel der Thymozyten und Lymphozyten gehemmt wird. Dadurch kommt es einerseits zur Degeneration und zur Lyse dieser Zellen, sowie zur Beeinträchtigung der Leukozytenfunktion, insbesondere die der Lymphozyten. Andererseits wird die Produktion der Zytokine nachhaltig unterdrückt, welche für die spezifische Immunantwort essentiell sind. Dies alles bedingt einen Mangel an Antikörpern und führt zu einer temporären Immunsuppression (Thun et al., 1994).

Da fetale Glukokortikoide wesentlich für die Terminierung des Geburtszeitpunktes verantwortlich sind und peripartal sowohl im fetalen als auch im maternalen Zirkulationssystem erhöht sind, gründet sich bislang die empirisch vermutete peripartale Immunsuppression der Rinder auf diesen Vorgängen (Comline et al., 1974; Hudson et al., 1975b; Heuwieser et al., 1987; Thun et al., 1994). Von dieser Ansicht ausgehend müsste demnach die Immunsuppression nach einer Dystokie ausgeprägter als nach einer Eutokie sein, da anzunehmen ist, dass im erstgenannten Fall die Kortisonwerte nachhaltiger maximiert sind. Ob dies so ist, ist fraglich, da entsprechende Untersuchungen dazu fehlen.

### **2.3.4 Auswirkungen von prä-, intra- und postpartalen Vorgängen auf das weiße Hämogramm**

Literaturangaben über die Veränderungen des weißen Hämogramms während der Gravidität sind in großer Zahl vorhanden, aber in ihren Resultaten unterschiedlich. Während Storkebaum (1951) und Conner et al. (1967) einen kontinuierlichen Abfall der Gesamtleukozyten im Verlauf der Gravidität nachwiesen, konnten Moberg (1956) und Pomsel (1980) einen Anstieg der Leukozyten während der Gravidität im Zusammenhang mit einer Konzentrationserhöhung aller Zellen des weißen Hämogramms nachweisen.

Mit nahender Geburt wird von vielen Autoren einheitlich ein Anstieg der Konzentrationen aller weißen Blutzellen beschrieben. Diese Konzentrationen nehmen in der letzten Woche vor dem Partus nochmals überproportional zu (Szepeshelyi, 1934, Ferguson et al., 1941; Storkebaum, 1951; Comolle, 1958; Elecko, 1964).

Im peripartalen Zeitraum sind die Veränderungen des weißen Blutbildes am größten. Die durchschnittliche intrapartale Leukozytenzahl beträgt bei Kühen  $15,07 \pm 4,29 \times 10^3$  Leukozyten/ $\mu\text{l}$  (Bleul, 1998). Zusätzlich ändert sich die Konzentration der Leukozyten in den ersten 120 Stunden post partum signifikant (Bleul, 1998). Unmittelbar post partum kommt es zu einer Leukozytose, deren höchste Konzentration durch mehrere Autoren, aufgrund unterschiedlicher Blutentnahmeintervallen, zu verschiedenen Zeiten angegeben wird. Die Angaben schwanken von unmittelbar post partum (Moberg, 1955) bis zu einem Tag post partum (Comolle, 1958). Graen (1985) und Bleul (1998) beschreiben die höchste Leukozytenkonzentration vier Stunden post partum. Diese wird von Bleul (1998) als Geburtsleukozytose bezeichnet. Diese Leukozytose ist im Differentialblutbild hauptsächlich bedingt durch eine vermehrte Anzahl neutrophiler Granulozyten (Szepeshelyi, 1934; Gram, 1950; Merrill und Smith, 1954), die intra partum etwa die doppelte antepartale Konzentration erreichen (Moberg, 1955; Holman, 1955).

In der frühen postpartalen Periode kommt es zu einem Absinken der Leukozytenkonzentrationen (Bleul, 1998). Dies wurde von Thijn (1967) als „physiologische Leukopenie“ bezeichnet, mit einer durchschnittlichen Leukozytenzahl von 6640 Zellen/ $\mu\text{l}$ . In gleicher Weise wie die intrapartale Leukozytose auf eine massive Vermehrung der neutrophilen Granulozyten zurückzuführen ist, ist deren Verringerung im Blut für die verminderte Gesamtleukozytenzahl nach der Kalbung verantwortlich (Holman, 1955; Straub et al., 1959; Benysek und Kudlac, 1971).

Eine komplikationsbehaftete Geburt und das Auftreten einer Retentio secundinarum haben einen signifikanten Einfluss auf die Konzentrationen der Leukozyten. Nach Bleul (1998) findet sich bei Tieren mit schwerer konservativer Geburtshilfe und ungestörter postpartaler Periode ein Maximum der Leukozytenkonzentration mit durchschnittlich  $18,74 \pm 5,26 \times 10^3$  Leukozyten/ $\mu\text{l}$  ebenfalls vier Stunden post partum. Bei Rindern, welche eine Retentio secundinarum entwickeln, liegt schon der intrapartale Wert mit  $14,11 \pm 4,28 \times 10^3$  Leukozyten/ $\mu\text{l}$  im Mittel niedriger als bei Rindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode. Ab der vierten Stunde post partum kommt es bei Kühen mit einer Nachgeburtsverhaltung zu einem deutlichen Abfall der Leukozytenkonzentration bis 48 Stunden nach der Geburt auf leukopenische Werte von  $4,47 \pm 1,85 \times 10^3$  Leukozyten/ $\mu\text{l}$ . Anschließend führt ein kontinuierlicher Anstieg der weißen Blutkörperchen zu einer fast vollständigen Angleichung der Leukopenie an den physiologischen Bereich bis zum zehnten Tag nach dem Partus (Bleul, 1998). Des Weiteren beschreibt Bleul (1998) in seiner Studie mit 66 Rindern der Rasse Deutsch Schwarzbunte und Deutsch Rotbunte den niedrigsten Mittelwert der weißen Blutkörperchen ( $3,26 \pm 1,44 \times 10^3$  Leukozyten/ $\mu\text{l}$ ) bei Tieren mit leichter konservativer Geburtshilfe und einer Retentio secundinarum 48 Stunden post partum.

Als Ursache der Leukopenie wird eine, durch das Zurückbleiben der Sekundinae bedingte, Stresssituation vermutet. Allerdings konnten Hartig (1986) und Ehlers (1987) zeigen, dass eine Nachgeburtsverhaltung nicht zu einer signifikanten Erhöhung der Glukokortikoidkonzentration im maternalen Plasma führt und somit nicht als messbarer Indikator eines Stressors auszumachen war. Vielmehr beruht das Fehlen der neutrophilen Granulozyten und der Lymphozyten im Blut auf einem erhöhten Verbrauch dieser Zellen im Endometrium und im Uteruslumen (Moberg, 1956; Sobiraj, 1992; Cai et al., 1994). Dadurch kommt es zu einer Umverteilung der Entzündungszellen vom intravasalen System in das Reproduktionsorgan, bedingt durch die uterine Situation.

## **2.4 Bedeutung von Dystokien und postpartalen Störungen in Milchrinderbeständen**

Gravidität, Geburtsgeschehen sowie die beginnende Laktation sind mit erheblichen Einflüssen auf die Gesamtstoffwechsellage des maternalen Organismus verbunden (Bostedt, 1972). Einerseits kommt es in der Hochträchtigkeit zu einem labilen Gleichgewicht zwischen

graviditätsbedingtem Leistungsanspruch und maternaler Kompensationsmöglichkeit. Dieses System erfährt sub partu eine erneute Höchstbelastung (Bostedt, 1972). Andererseits sind hierfür ebenso hormonelle Verschiebungen, bedingt durch die in der Gravidität bestehende Stabilität zwischen dem Fetus, der Plazenta und dem maternalen Organismus mit beteiligt.

Hinzu kommt, dass parallel zum Partus oder unmittelbar post partum die Laktation einsetzt. Dies ist zwar bei allen Säugetieren der Fall, jedoch ist insbesondere beim Hochleistungsmilchrind die Milchmenge und somit die Beanspruchung weitaus höher als bei ursprünglichen Rinderrassen. Somit wird der eine Funktionsanspruch durch den anderen Hochleistungsanspruch überlagert. Deshalb kann es beim Rind relativ schnell zu Stoffwechselentgleisungen kommen. In Kombination mit länger anhaltenden Imbalancen in der Ernährung, ungünstigen Klimaverhältnissen oder präexistenten Organerkrankungen kann dies sogar peripartal zum totalen Zusammenbruch des Muttertieres führen (Bostedt, 1972).

Eine besondere Beanspruchung des maternalen Organismus stellt die Dystokie beim Milchrind dar. Gerade dadurch können langwierige Depressionsphasen in der postpartalen Periode ausgelöst werden. Allerdings betrifft das nur einen geringen Anteil in der Herde, während sich Ernährungs- und Haltungsfehler umfassend negativ auswirken. Der Prozentsatz an Schweregeburten, gemessen an der Gesamtzahl der Abkalbungen, wird von vielen Autoren unabhängig von den Bestands- und Tierunterschieden fast übereinstimmend zwischen 2,5% und 5,2% angegeben (Friedli, 1965; Marx et al., 1987; Berger, 1989). Allerdings ist im Gegensatz dazu die Krankheitsinzidenz in der peripartalen Periode weitaus höher, auch im Vergleich zu anderen Reproduktions- und Leistungsstadien (Lamote et al., 2006). Hierbei handelt es sich vorwiegend um Infektionen des Euters und des Uterus. Zusätzlich kommt es zu Zurückhaltungen der Secundinae, Elektrolythomöostasestörungen und Ketose, was unter dem Begriff „Puerperales Syndrom“ zusammengefasst wird (Sutherland et al., 1979). Die Häufigkeit des Auftretens des Puerperalen Syndroms ist jedoch rasse- bzw. leistungsabhängig. Sutherland et al. (1979) ermittelten eine Inzidenz des puerperalen Syndroms bei Hochleistungsrindern der Rasse Friesian von 28,6 % gegenüber 17,5 % bei Rindern der Rasse Jersey. Bei erhöhten Blut-Cholesterolkonzentrationen über eine Standardabweichung hinaus ( $> 3,40 - 3,85 \text{ mmol/l}$ ), erhöht sich die Inzidenz sogar auf 36,2 % bei Hochleistungsrindern respektive 18,4 % bei Rindern der Rasse Jersey.

Die Inzidenz der Infektionen des Uterus wird mit bis zu 40 % angegeben (Lewis, 1997), die von Nachgeburtsverhaltungen mit bis zu 39 % (Kimura et al., 2002). Allerdings sind sowohl



der Mechanismus der Expulsion der Plazenta als auch die Ursachen einer Retentio secundinarum nicht geklärt. Es wird angenommen, dass dabei mehrere Faktoren, wie Alter, Rasse, Haltung und Fütterung eine Rolle spielen (Hurley et al., 1989; Barnouin et al., 1991).

Hieraus ist ersichtlich, dass bislang immer nur die Einzelfaktoren betrachtet wurden. Diese Erkenntnisse können aber keine endgültige Erklärung für die vielgestaltigen Störungen und deren lange Dauer p.p. geben. Es fehlt an einer globalen Übersicht, die sowohl endogene als auch exogene Faktoren berücksichtigt.

Unberücksichtigt blieb nämlich bislang die Frage, inwieweit sich die immunologischen Einflüsse in diesem Zusammenhang protrahierend auswirken. Mehrere Autoren vermuten als Ursache für eine erhöhte Infektanfälligkeit in der postpartalen Periode nach Dystokien eine Suppression des Immunsystems, wobei sie dies ausnahmslos durch eine verminderte Aktivität der Lymphozyten (Kehrli et al., 1989) oder der neutrophilen Granulozyten begründen (Diez-Fraile et al., 2003; Lamote et al., 2006). Die Lösung der Nachgeburt soll ebenfalls ein immunologischer Vorgang sein, wobei der maternale Organismus die Plazenta post partum als fremd erkennen muss, um diese zu attackieren und abzustößen (Gunnink, 1984). Somit könnte eine eventuelle Depression innerhalb des Immunsystems (Kimura et al., 2002) eine Zurückhaltung der Secundinae zur Folge haben. Damit könnte auch die enorme Diskrepanz zwischen dem relativ geringen Prozentsatz an Dystokien von 5,2 % bei Rindern und dem hohen Auftreten von postpartalen Störungen, mit bis zu 40 %, erklärt werden. Für diese These sprechen auch die Tatsachen, dass Dystokien in Zusammenhang mit einer erhöhten Prävalenz an Nachgeburtsverhaltungen (Curtis et al., 1985) und Metritiden (Curtis et al., 1985; Erb et al., 1985) stehen. So beschreiben Curtis et al. (1985) in ihrer Studie mit 1374 multiparen Kühen der Rasse Holstein Friesian, dass diese nach Schweregeburten eine vier- bis fünfmal höhere Inzidenz an Metritiden und Nachgeburtsverhaltungen haben. Ob tatsächlich eine länger anhaltende direkte Immunsuppression bei Kühen, insbesondere nach Dystokien gleich welcher Art besteht, ist bislang unbekannt.

### 3. Eigene Untersuchungen

#### 3.1 Material

##### 3.1.1 Probandenkollektiv

Das Probandenkollektiv für die vorgelegte Untersuchung umfasst insgesamt 57 Rinder. Das Alter lag bei  $3,7 \pm 1,6$  Jahren (3 bis 9 Jahre).

Tiere mit komplikationsfreier Geburt wiesen ein Alter von  $4,0 \pm 1,4$  Jahren (3 bis 8 Jahre), die mit Geburtskomplikationen behafteten von  $3,6 \pm 1,6$  Jahren (3 bis 9 Jahre).

Die Probanden des Kollektivs gehörten folgenden Rassen an:

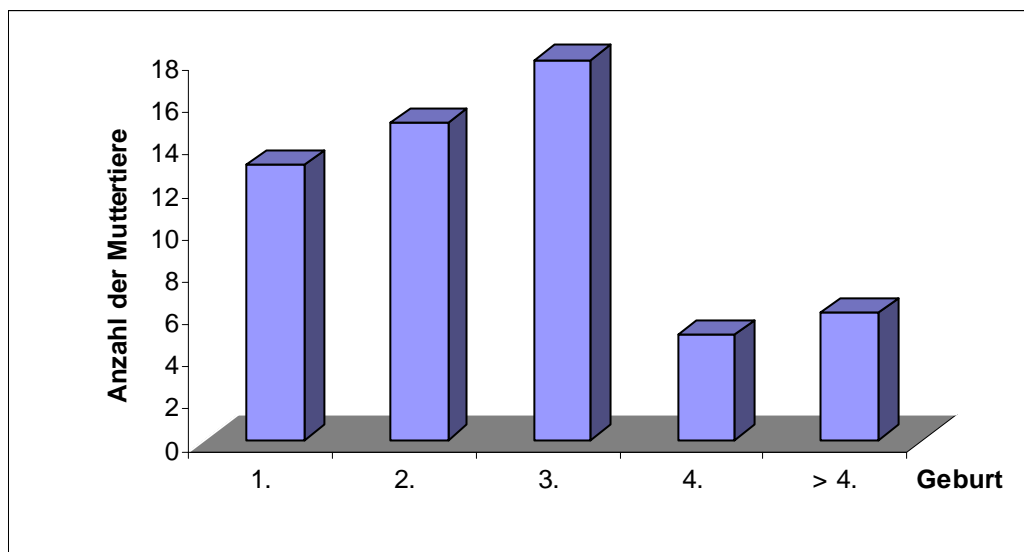
33 Rinder der Rasse HF SB (57,9 %), 15 Kühen der Rasse HF RB (26,3 %) und 9 Tiere der Rasse Deutsches Fleckvieh (DFV) (15,8 %).

Nach der Geburtsziffer verteilten sich die untersuchten Tiere wie folgt:

Primiparae	n = 13	22,8 %
Pluriparae	n = 44	77,2 %

➤ davon:

mit der 2. Geburt	n = 15	34,1 %
mit der 3. Geburt	n = 18	40,9 %
mit der 4. Geburt	n = 5	11,4 %
mit der $\geq 5$ . Geburt	n = 6	13,6 %



Grafik 4: Verteilung der Tiere des Probandenkollektives nach der Geburtsziffer (n = 57).

Die Graviditätsdauer lag bei allen Muttertieren im physiologischen Bereich von  $285 \pm 10$  Tagen.

Ein Teil der Probanden (n = 18) wurde schon im siebten Monat der Gravidität in der Klinik in Anbindehaltung aufgestellt und täglich überwacht. Am Tag der Einstellung sind die Tiere einer allgemeinen und speziellen gynäkologischen Untersuchung unterzogen worden. Dabei erfolgte auch die Überprüfung der Intaktheit der Gravidität mittels transrektaler Sonografie. Zusätzlich wurden die Kühe nach Überprüfung der Eutergesundheit mit Cobactan DC® (Intervet, Unterschleißheim) antibiotisch trocken gestellt.

In der Trockenstehperiode bekamen diese Tiere Heu ad libitum sowie täglich 2,5 kg Hafer, 1 kg Rübenschnitzel und 100 g Mineralfutter auf zwei Portionen verteilt. Nach der Kalbung wurde die Futterration gemäß den Bedürfnissen der Tiere auf täglich 4 kg Hafer, 2 kg Rübenschnitzel, 7 kg Milchleistungsfutter und 100 g Mineralfutter in 2 Portionen erhöht. Das Heu ist weiterhin ad libitum vorgelegt worden. Die Wasserversorgung war durch Selbsttränkeautomaten ständig gewährleistet.

Jene Tiere, die aufgrund einer Geburtsstörung in die Klinik kamen, konnten erst nach Beendigung der Geburt in der Klinik in Anbindehaltung eingestallt werden. Zuvor erfolgten eine intensive allgemeine und spezielle geburtshilfliche Untersuchung mit anschließender assistierter Geburt. Die Fütterung und Wasserversorgung erfolgte analog den Rindern nach Eutokie.

Von den Probanden gebaren 21 Tiere spontan, ohne jegliche geburtshilfliche Maßnahmen. Von diesen Tieren, die komplikationsfrei geboren hatten, entwickelten drei eine Mastitis in der postpartalen Periode. Bei 16 Tieren konnte die Geburt durch geburtshilfliche Maßnahmen konservativ beendet werden, bei 20 Tieren musste eine operative Geburtshilfe durchgeführt werden. Die operative Geburtshilfe beschränkte sich in dieser Studie einzig auf die Schnittentbindung per Sectio caesarea conservativa (*Tab. 4*).

Das Geschlechterverhältnis der Kälber war deutlich zu Gunsten der männlichen verschoben. Insgesamt wurden 39 männliche und 21 weibliche Kälber geboren (*Tab. 4*). Drei Tiere gebaren Zwillinge. Ein Zwillingspaar war getrennt geschlechtlich, die anderen beiden Zwillingspaare waren gleichgeschlechtlich; einmal männlich und einmal weiblich.

Unmittelbar nach der Geburt sind die lebend zur Welt gekommenen Kälber segmental untersucht worden. Zusätzlich wurde der Säure-Basenhaushalt (Blut-pH,  $\Delta$ BE) der Neonaten überprüft. Innerhalb der ersten drei Lebensstunden bekamen sie zwei Liter Kolostrum von der Mutter. Weitere acht Stunden später wurden ihnen nochmals zwei Liter Kolostrum verabreicht. In der Folge sind die Kälber dann dreimal täglich mit je zwei Liter Kuhmilch versorgt und einmal am Tag einer klinischen Kontrolle unterzogen worden.

Unmittelbar nach der Geburt ist bei allen Probanden der Elektrolyt- und Energiestoffwechsel (Blutglucose- und Blut- $\beta$ -HBA-Konzentration, Kalzium-, Phosphor- sowie Magnesiumkonzentration im Blut) kontrolliert worden. Bei Abweichungen von der Norm wurden diese ausgeglichen und die Parameter in der Folge nochmals überprüft.

Neben der täglichen, klinischen Untersuchung wurden die Muttertiere am fünften und zehnten Tag p.p. rektal sowie vaginal kontrolliert und der Verlauf der postpartalen Periode dokumentiert. Von den 16 Rindern, die mit Hilfe konservativer Geburtshilfemaßnahmen geboren hatten, hatten acht Kühe eine gestörte postpartale Periode. Unter den 20 Rindern, bei denen die Geburt nur durch einen Kaiserschnitt beendet werden konnte, wiesen zehn Tiere eine gestörte postpartale Periode auf (*Tab. 4*). Als gestörte postpartale Periode wurde definiert, wenn die Probanden in dieser Zeitspanne eine Mastitis, Retentio secundinarum, postpartale Septikämie und / oder eine postpartale Endomyometritis entwickelten.

Die Rinder nach einer Dystokie blieben bis zum zehnten Tag p.p. in der Klinik. Die Tiere nach Eutokie standen bis zum 28. Tag p.p. für die Beprobung zur Verfügung. Vor der Entlassung erfolgte bei allen Tieren eine eingehende Kontrolle in Form einer allgemeinen und speziellen gynäkologischen Untersuchung.

### **3.1.2 Gruppeneinteilung**

Das Probandenkollektiv wurde nach Geburtsart und Verlauf der postpartalen Periode in drei Untersuchungsgruppen eingeteilt (*Tab. 4*).

Gruppe 1: Rinder mit Eutokie und anschließend

- 1.1 komplikationsfreie postpartale Periode (Kontrollgruppe)
- 1.2 komplikationsbehaftete postpartale Periode

Gruppe 2: Rinder mit leichter sowie schwerer konservativer Geburtshilfe und anschließend

- 2.1 komplikationsfreie postpartaler Periode
- 2.2 komplikationsbehaftete postpartaler Periode

Gruppe 3: Rinder mit Sectio caesarea und anschließend

- 3.1 komplikationsfreie postpartaler Periode
- 3.2 komplikationsbehaftete postpartaler Periode

Tabelle 4: Gruppeneinteilung des Probandenkollektivs (n = 57) nach Geburtsart und Verlauf der postpartalen Periode mit zusätzlicher Angabe über die Lebensfähigkeit der Neonaten

Geburtsart und Verlauf der postpartalen Periode	n	postpartale Periode		Anzahl lebender Kälber		Anzahl toter Kälber	
		komplikationsfrei	komplikations-behaftet	männlich	weiblich	männlich	weiblich
Muttertiere mit Eutokie (Gruppe 1)	21	18	3	9	12	0	0
Muttertiere mit KGH (Gruppe 2)	16	8	8	10	4	3	1
Muttertiere mit Sectio caesarea (Gruppe 3)	20	10	10	7	2	10	2

KGH = konservative Geburtshilfe

## 3.2 Methoden

### 3.2.1 Entnahmeintervalle und Probengewinnung

Je nach Gruppe sind die Termine der Probenentnahme aus der Vena jugularis vor Beginn der Untersuchung wie folgt festgelegt worden (Tab. 5):

Gruppe 1.1: wöchentliche Entnahme im Zeitraum acht Wochen bis eine Woche ante partum, danach täglich bis zum Partus; intra partum, unmittelbar post partum sowie 12 und 24 Stunden p.p.; 2., 3., 4., 5., 7., 10., 14., 21. und 28. Tag p.p.

Gruppen 1.2, 2.1, 2.2, 3.1 und 3.2:

intra partum, unmittelbar post partum sowie 12 und 24 Stunden p.p.; 2., 3., 4., 5., 7. und 10. Tag post partum

Die Blutentnahme erfolgte mittels einer sterilen V<sub>2</sub>A-Einmalkanüle 17 G der Stärke 1,5 x 50 mm der Firma Dispomed Witt oHG (Gelnhausen) nach Desinfektion der Punktionsstelle mit 70 %iger Alkohollösung in der Zeit von acht Wochen a.p. bis zur Geburt.

Um eine weitgehend stressfreie Blutentnahme in der Zeit unmittelbar post partum mit Blutentnahmen in engen Intervallen zu gewährleisten, wurde den Kühen in der Geburt ein Venenverweilkatheter gelegt. Dazu ist die Punktionsstelle großflächig ausgeschoren und mit Alkohol desinfiziert worden. Nach Stauung der Vene und Punktion wurde eine sterile Venenpunktionskanüle der Größe 4/G12 mit einer Länge von 80 mm der Firma Braun (Melsungen) eingelegt. Diese ist mittels zwei Polyglactinfäden (Vicryl) mit einem Durchmesser von 2 metric der Firma Ethicon (Norderstedt) perkutan fixiert worden. Die Venenkatheterspitze wurde täglich mehrfach gepflegt, der Katheter selbst ist nach drei Tagen wieder entfernt worden. Danach wurden die Proben wieder durch Einzelpunktion entnommen.

Die Gesamtmenge des entnommenen Blutes pro Entnahmezeitpunkt betrug 41,3 ml. Dabei wurden dreimal je 10,0 ml Serum und einmal 10 ml Plasma in Monovetten (Sarstedt, Nürnberg) gewonnen. Des Weiteren wurde 1,3 ml Blut in einem Mikro-Probengefäß, welches mit Tri-Kalium-Äthylendiamintetraessigsäure (K3 EDTA) beschichtet war (Sarstedt, Nürnberg), aufgefangen. Dieses wurde sofort nach dem Verschluss manuell und anschließend auf einem Adams Nutator Nr. 1106 für fünf bis zehn Minuten geschwenkt.

Unmittelbar nach Beendigung der Geburt wurde den Probanden ein Quantum von 500 ml Kolostrum abgemolken, woraus eine Probe von 20,0 ml für die Analyse gezogen und in einem sterilen Röhrchen aufbewahrt wurde.

Tabelle 5: Beprobungszeitpunkte während des gesamten Untersuchungszeitraumes

Zeit	Blutproben- entnahme- rhythmus bei Probanden mit Eutokie	Blutproben- entnahme- rhythmus bei Probanden mit Dystokie
8 Wochen a.p.	X	
6 Wochen a.p.	X	
4 Wochen a.p.	X	
2 Wochen a.p.	X	
1 Tag a.p.	X	
intra partum	X	X
unmittelbar p.p.	X	X
12h p.p.	X	X
24h p.p.	X	X
2. Tag p.p.	X	X
3. Tag p.p.	X	X
4. Tag p.p.	X	X
5. Tag p.p.	X	X
7. Tag p.p.	X	X
10. Tag p.p.	X	X
14. Tag p.p.	X	
18. Tag p.p.	X	
21. Tag p.p.	X	
28. Tag p.p.	X	

### 3.2.2 Aufbereitung und Lagerung der Proben

Die Serumproben wurden bis zu ihrer Gerinnung bei Kühlschranktemperatur gelagert. Danach erfolgten deren Abzentrifugation und das Dekantieren in sterile Röhrchen, worin sie bis zur weiteren Bearbeitung bei  $-20^{\circ}\text{C}$  tiefgefroren lagerten. Die Zentrifugation erfolgte bei 3000 Umdrehungen pro Minute für zehn Minuten in einer Christ-Kühlzentrifuge (Firma Heraeus-Christ, Hanau).

Die Blutproben in den EDTA-Gefäßen wurden nach Schwenkung auf dem Adams Nutator Nr. 1106 mindestens 30 Minuten bei Zimmertemperatur gelagert und innerhalb von maximal einer Stunde nach Probeentnahme mittels des Hämatologie-Analysegerätes Cell-Dyn® 3500 CS untersucht.

Die Proben des Erstkolostrums wurden ebenfalls sofort nach Entnahme in einem sterilen Röhrchen bei  $-20^{\circ}\text{C}$  tiefgefroren.



### 3.3 Laboruntersuchungen

#### 3.3.1 Bestimmung von Immunglobulin G und M

In Zusammenarbeit mit dem Institut für Biochemie und Endokrinologie des Fachbereiches Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen wurde der von Taday (1998) entwickelte, von Stengel (1998) etablierte und von Bender (2004) modifizierte sowie evaluierte kompetitive ELISA zur Bestimmung von bovinem IgG angewandt. Des Weiteren kam der von Bender (2004) entwickelte und evaluierte kompetitive ELISA zur Bestimmung von bovinem IgM für diese Arbeit zum Einsatz.

##### 3.3.1.1 ELISA zur Bestimmung des IgG-Gehaltes im Serum und im Kolostrum von Rindern

Anzumerken ist, dass der für die IgG-Messung verwendete Antikörper nicht im Stande ist, zwischen IgG<sub>1</sub> und IgG<sub>2</sub> zu differenzieren. Aufgrund dessen konnte im Rahmen der Untersuchungen nur die Summe aus IgG<sub>1</sub> und IgG<sub>2</sub> bestimmt werden.

##### Eingesetzte Lösungen:

Beschichtungspuffer: 15 mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>  
35 mM NaHCO<sub>3</sub>  
pH = 9,6

Antigenlösung: 1000 ng IgG/ml Beschichtungspuffer  
(erstellt aus bovinem IgG, whole molecule unconjugated, Code-  
Number: 001-0102,  
Lot-Number: 12777,  
Rockland, Gilbertsville, PA, USA)

Blockinglösung: 1 % EIA-Grade Gelatine (Biorad, München) in Tris-Puffer

Erstantikörperlösung: 1:10.000 in Tris-Puffer, 4 % EIA-Grade Gelatine,  
4 % Tween 20 (Serva, Heidelberg)  
(erstellt aus Affinity Purified Rabbit Anti-Bovine IgG H und L; Lot  
RGHL-10A-7, Bethyl Laboratories, Montgomery, TX, USA)

Tris-Puffer: 0,1 M Tris  
0,15 M NaCl  
0,04% NaN<sub>3</sub>  
pH = 7,4

TBST Tris-Puffer  
0,1 % Tween 20

Zweitantikörperlösung: 1:2.500 in TBS  
(erstellt aus Biotin-SP-conjugated AffiniPure Goat Anti-  
Rabbit IgG H und L; Code Number 111-065-003, Lot Number  
68399, Jackson Immuno Research, West Grove, PA, USA)

Streptavidin-AP-Lösung: 1:500 in TBS  
(erstellt aus Alkaline Phosphatase-conjugated  
Streptavidin; Code Number 016-050-084,  
Lot Number 68787, Jackson Immuno Research,  
West Grove, PA, USA)

Enzypufferlösung: 0,5 mM MgCl<sub>2</sub>  
10 mM Ethanolamin (C<sub>2</sub>H<sub>7</sub>NO); Serva, Heidelberg  
pH = 9,5

Substratlösung: 1 mg/ml p-Nitrophenylphosphat in Enzympufferlösung  
(4-pNPP: para-Nitrophenylphosphate-Na<sub>2</sub>-Salt 25g)  
Nr. 30770; Serva, Heidelberg

Mikrotiterplatten: NUNC Nr. 269620 (DUNN, Asbach)

Stopplösung: 3 N NaOH

**Eingesetzte Geräte:**

- Einkanalpipetten (Eppendorf, Hamburg) und Achtkanalpipetten (Socorex Swiss, Lausanne)
- Vortex-Schüttler (Bender-Holbein, Zürich)
- Orbitalschüttler (Heidolph Titramax 100; Fa. Heidolph, Schwabach)
- Washer (Biorad Model 1575 ImmunoWash, München)
- Photometer (Labsystems iEMS Reader MF, Quickborn)

Tabelle 6: Methodische Schritte für die IgG-Bestimmung mittels kompetitivem ELISA

Arbeitsschritt	Temperatur	Menge $\mu\text{l}/\text{Well}$	in Zeit
Alkalisierung der Mikrotiterplatte mit Beschichtungspuffer	RT	100	15min
Beschichtung mit Antigenlösung	4°C oder RT	100	1h oder über Nacht
Blocken freier Bindungen mit Blockinglösung	RT	200	1h
Inkubation mit Erstantikörper	RT	100	1h
Waschen mit TBST	RT	200	3 x 3min
Inkubation mit Zweitantikörper	RT	100	1h
Waschen mit TBST	RT	200	3 x 3min
Inkubation mit Streptavidin	RT	100	30min
Waschen mit TBST	RT	200	3 x 3min
Inkubation mit Substratlösung (nicht abschütten!)	RT	100	15min
Stoppen der Farbreaktion mit Stopplösung	RT	50	
Messung der Extinktion bei 405nm			

Zuerst müssen die Mikrotiterplatten mit 100  $\mu\text{l}$  pro Well bei Raumtemperatur für 15 min alkalisiert werden. Danach wird der Puffer abgeschüttet und die Platten bis zur Trocknung auf mehrere Lagen Zellstoff geklopft. Darauf folgend werden die Mikrotiterplatten mit Immunglobulinen mittels 100  $\mu\text{l}/\text{Well}$  pipettierter Antigenlösung beschichtet, worauf die Inkubation bei 4°C im Kühlschrank über Nacht, mindestens jedoch eine Stunde bei Zimmertemperatur erfolgt. Daran schließt sich ein erneutes Abschütten und eine Trocknung durch Klopfen der Platten an. Danach ist es sowohl möglich die Platten unmittelbar weiter zu verarbeiten, als auch bei Kühlschranktemperatur für maximal zwei Wochen aufzubewahren.

Die weitere Anwendung besteht zunächst in der Blockierung unspezifischer Bindungsstellen durch 200 µl pro Well der Blockinglösung bei Raumtemperatur.

Im weiteren Verlauf findet eine Inkubation der Probe zusammen mit der Erstantikörperlösung direkt auf der Mikrotiterplatte ohne Vorinkubation statt. Hierfür müssen 25 µl der Erstantikörperlösung und 75 µl der Probenverdünnung zusammen in ein Well pipettiert werden. Die Sera kamen in einer Verdünnung von 1:5 000 im TBS zur Anwendung, wobei einzelne Serumproben eine solche Immunglobulinkonzentration beinhalteten, welche es notwendig machten, diese in einer Verdünnung von 1:2 500 000 nochmals zu bestimmen.

Das Kolostrum wird in den Verdünnungen von 1:2 500 000 bis 1:5 000 000 gemessen.

Eine ausreichende Durchmischung garantiert die Inkubation auf dem Orbitalschüttler.

Des Weiteren werden die Platten nach jedem Inkubationsschritt mittels des Washers gewaschen, wobei es notwendig ist, die Mikrotiterplatten nach jedem Waschschrift auf Zellstoff trocken zu klopfen. Danach erfolgt die Inkubation mit der Zweitantikörperlösung und mit Streptavidin-Alkalischer Phosphatase-Lösung. Anschließend wurden, nach Zugabe von 100 µl pro Well der Substratlösung, die Extinktionen in einem fünf minütigem Abstand bei 405 nm photometrisch bestimmt.

Es zeigt sich, dass circa 15 Minuten nach Zugabe des Substrates die Extinktion der niedrigsten Verdünnungsstufe den Wert 1,0 erreichte. Somit wird dieser Zeitpunkt aufgrund des Lambert-Beerschen Gesetzes ( $E = d \cdot \epsilon \cdot C$ ) als geeignet angesehen, um die Probe mit der Stopplösung zu versehen (*Tab. 8*). Dieses Gesetz ist die Grundlage der Photometrie bzw. der Kolorimetrie und besagt, dass es eine lineare Beziehung zwischen der Extinktion und der Menge des zu messenden Agens gibt, solange der Wert der Extinktion unter 1,0 liegt.

Für jede Mikrotiterplatte wird jeweils ein Leerwert, welcher nur TBS und einer, der lediglich Erstantikörperlösung enthält, bestimmt.

Um methodische Messfehler weitestgehend zu minimieren, sind drei Messungen pro Probe notwendig. Aus dieser Dreifachbestimmung wird der arithmetische Mittelwert bestimmt und hieraus die Antigenkonzentration errechnet.

Das Photometer ist zusätzlich mit einem Computersystem ausgestattet. Hierauf findet das Programm Genesis Version 3.00, Full Mode (Labsystems) seine Anwendung. Die Umrechnung der Extinktion in die absolute Konzentration der Immunglobuline erfolgt mit Hilfe der Software Graph Pad Prism, Version 3.02.

**Standardreihe:**

Die Erstellung einer Standardreihe mit aufsteigenden Konzentrationen der IgG's in TBS ist Voraussetzung, um eine Aussage über die Immunglobulinkonzentrationen der Proben treffen zu können (*Tab. 7*).

Tabelle 7: Übersicht über die Konzentrationen der Standardreihe für die IgG-Bestimmung

Standardprobe Nr.	Antigenkonzentration ng/ml
2	10
3	100
4	200
5	400
6	1.000
7	5.000
8	10.000

**Pipettierschema für die Standardreihe:**

Zuerst wird eine Stammlösung mit der Antigenkonzentration 1000 ng/ml hergestellt und diese dann weiter verdünnt (*Tab. 8*).

Die berechnete Menge ist ausreichend für drei Mikrotiterplatten.

Tabelle 8: Pipettierschema für die Standardreihe der IgG-Bestimmung

<b>Ag-Konzentration</b> in ng/ml	<b>TBS in <math>\mu</math>l</b>	<b>IgG-Standard bzw.</b> <b>Ag-Stammlösung</b>
10.000	1.000	1 $\mu$ l IgG-Standard
5.000	2.000	1 $\mu$ l IgG-Standard
1.000	10.000	1 $\mu$ l IgG-Standard
400	360	240 $\mu$ l Stammlösung
200	480	120 $\mu$ l Stammlösung
100	540	60 $\mu$ l Stammlösung
10	594	6 $\mu$ l Stammlösung

### 3.3.1.2 ELISA zur Bestimmung des IgM-Gehaltes im Serum und im Kolostrum von Rindern

#### Eingesetzte Lösungen:

Beschichtungspuffer: 15 mM  $\text{Na}_2\text{CO}_3$   
 35 mM  $\text{NaHCO}_3$   
 pH = 9,6

Antigenlösung: 100 ng IgM/ml Beschichtungspuffer  
 (erstellt aus Bovine IgM, whole molecule,  
 Code-Number: 001-0107, Lot-Number: 4180,  
 Rockland, Gilbertsville, PA, USA)

Blockinglösung: 1 % EIA-Grade Gelatine (Biorad, München) in Tris-Puffer

- Erstantikörperlösung: 1:10.000 in Tris-Puffer, 4 % EIA-Grade Gelatine,  
4 % Tween 20 (Serva, Heidelberg)  
(erstellt aus Affinity Purified Rabbit Anti-Bovine IgM (Mu Chain); Lot  
Number RM-10A-7/, Bethyl Laboratories, Montgomery, TX, USA)
- Tris-Puffer: 0,1 M Tris  
0,15 M NaCl  
0,04% NaN<sub>3</sub>  
pH = 7,4
- TBST Tris-Puffer  
0,1 % Tween 20
- Zweitantikörperlösung: 1:2.500 in TBS  
(erstellt aus Biotin-SP-conjugated AffiniPure Goat Anti-  
Rabbit IgG H und L; Code Number 111-065-003, Lot Number  
68399, Jackson Immuno Research, West Grove, PA, USA)
- Streptavidin-AP-Lösung: 1:500 in TBS  
(erstellt aus Alkaline Phosphatase-conjugated  
Streptavidin; Code Number 016-050-084,  
Lot Number 68787, Jackson Immuno Research,  
West Grove, PA, USA)
- Enzympufferlösung: 0,5 mM MgCl<sub>2</sub>  
10 mM Ethanolamin (C<sub>2</sub>H<sub>7</sub>NO); Serva, Heidelberg  
pH = 9,5
- Substratlösung: 1 mg/ml p-Nitrophenylphosphat in Enzympufferlösung  
(4-pNPP: para-Nitrophenylphosphate-Na<sub>2</sub>-Salt 25g)  
Nr. 30770; Serva, Heidelberg
- Mikrotiterplatten: NUNC Nr. 269620 (DUNN, Asbach)



---

Stopplösung: 3 N NaOH

**Eingesetzte Geräte:**

- Einkanalpipetten (Eppendorf, Hamburg) und Achtkanalpipetten (Socorex Swiss, Lausanne)
- Vortex-Schüttler (Bender-Holbein, Zürich)
- Orbitalschüttler (Heidolph Titramax 100; Fa. Heidolph, Schwabach)
- Washer (Biorad Model 1575 ImmunoWash, München)
- Photometer (Labsystems iEMS Reader MF, Quickborn)

Die Messung der Immunglobuline M mittels ELISA erfolgt analog der IgG-Bestimmung (Tab. 9).

Die Sera kamen ebenfalls in einer Verdünnung von 1:5 000 im TBS zur Anwendung.

Das Kolostrum wurde in den Verdünnungen von 1:2 500 000 bis 1:5 000 000 gemessen.

Allerdings ist es notwendig, die Konzentration der Antigenlösung für die Beschichtung der Mikrotiterplatten im Gegensatz zu der für die IgG-Analyse zu verringern, da die zu erwarteten IgM-Konzentrationen niedriger liegen als jene der Immunglobuline G.

Tabelle 9: Methodische Schritte für die IgM-Bestimmung mittels kompetitivem ELISA

Arbeitsschritt	Temperatur	Menge μl/Well	in Zeit
Alkalisierung der Mikrotiterplatte mit Beschichtungspuffer	RT	100	15min
Beschichtung mit Antigenlösung	4°C oder RT	100	1h oder über Nacht
Blocken freier Bindungen mit Blockinglösung	RT	200	1h
Inkubation mit Erstantikörper	RT	100	1h
Waschen mit TBST	RT	200	3 x 3min
Inkubation mit Zweitantikörper	RT	100	1h
Waschen mit TBST	RT	200	3 x 3min
Inkubation mit Streptavidin	RT	100	30min
Waschen mit TBST	RT	200	3 x 3min
Inkubation mit Substratlösung (nicht abschütten!)	RT	100	15min
Stoppen der Farbreaktion mit Stopplösung	RT	50	
Messung der Extinktion bei 405nm			

**Standardreihe:**

Die Erstellung einer Standardreihe mit aufsteigenden Konzentrationen der IgM's in TBS ist hier ebenfalls Voraussetzung, um eine Aussage über die Immunglobulinkonzentrationen der Proben treffen zu können (*Tab. 10*).

Tabelle 10: Übersicht über die Konzentrationen der Standardreihe für die IgM-Bestimmung

Standardprobe Nr.	Antigenkonzentration ng/ml
2	10
3	100
4	200
5	400
6	1.000
7	2.000
8	4.000

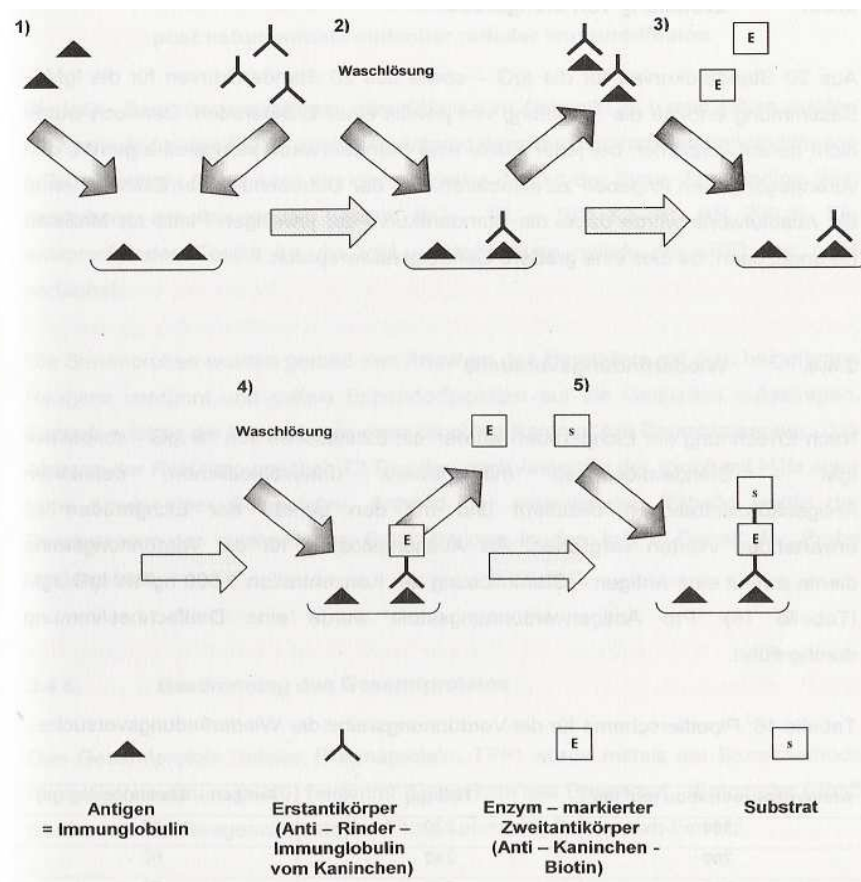
**Pipettierschema für die Standardreihe:**

Zuerst wird eine Stammlösung mit der Antigenkonzentration 1000 ng/ml hergestellt und diese dann weiter verdünnt (*Tab. 11*).

Die berechnete Menge ist ausreichend für drei Mikrotiterplatten.

Tabelle 11: Pipettierschema für die Standardreihe der IgM-Bestimmung

<b>Ag-Konzentration</b> in ng/ml	<b>TBS in <math>\mu</math>l</b>	<b>IgM-Standard bzw.</b> <b>Ag-Stammlösung</b>
4.000	500	2,22 $\mu$ l IgM- Standard
2.000	500	1,11 $\mu$ l IgM- Standard
1.000	2.000	2,22 $\mu$ l IgM- Standard
400	360	240 $\mu$ l Stammlösung
200	480	120 $\mu$ l Stammlösung
100	540	60 $\mu$ l Stammlösung
10	594	6 $\mu$ l Stammlösung



Grafik 6: Schematische Darstellung der Reaktionsschritte des ELISAs zur IgG- und IgM-Bestimmung.

Nachdem der Primärantikörper alle in der Probe vorhandenen Antigenmoleküle herausgefangen hat, binden überschüssige Primärantikörperteilchen an das auf der Platte haftende Antigen. Die Amplifizierung des Farbsignals wird durch die Verwendung eines biotinylierten Sekundärantikörpers erreicht. Auf die Darstellung des dafür erforderlichen Trennschrittes wurde hier zu Gunsten der Übersichtlichkeit verzichtet (aus: Bender, 2004).

### 3.3.1.3 Erstellung von Eichgeraden

Die Ermittlung von jeweils einer Eichgeraden folgt aus den Auswertungen von zwanzig Standardkurven für die IgG- respektive von zwanzig Standardkurven für die IgM-Bestimmung. Trotz allem wird nicht darauf verzichtet, bei jeder Platte eine Standardverdünnungsreihe gemäß den bereits angeführten Angaben zu inkubieren. Somit werden, um ein Höchstmaß an Genauigkeit zu erreichen, bei den Umrechnungen der Extinktionen in die Absolutwerte die Standardkurven der jeweiligen Mikrotiterplatten als Maßstab herangezogen.

### 3.3.1.4 Wiederfindungsversuche

Im Anschluss an die Erstellung der Eichgeraden werden die Extinktionen von zehn IgG- sowie zehn IgM-Standardlösungen mit differenten, jedoch definierten Antigenkonzentrationen bestimmt und mit den anhand der Eichgeraden zu erwartenden Werten abgeglichen.

Als Ausgangslösung für die Verdünnungsreihe dient wiederum eine Antigenstammlösung mit der Konzentration 1 000 ng/ml IgG respektive IgM (*Tab. 12*).

Es wird pro Verdünnungsstufe eine Dreifachbestimmung durchgeführt.

Tabelle 12: Pipettierschema für die Verdünnungsreihe der Wiederfindungsversuche

Antigenkonzentration (ng/ml)	TBS (µl)	Antigenstammlösung (µl)
100	270	30
200	240	60
300	210	90
400	180	120
500	150	150
600	120	180
700	90	210
800	60	240
900	30	270
1.000	0	300

### 3.3.2 Bestimmung der Leukozyten- und Lymphozytenkonzentration

Die Leukozyten- und die Lymphozytenkonzentrationen der Proben wurden mit dem Cell-Dyn® 3500 CS der Firma Abbott (Wiesbaden-Delkenheim) ermittelt. Dies ist ein Hämatologie-Analysegerät für die in vitro-Diagnostik von 20 verschiedenen hämatologischen Parametern, welches von Bleul et al. (2002) für Rinderblut evaluiert wurde.

Der Cell-Dyn® 3500 (*Abb. 1*) besteht aus einer Analyseeinheit und einer Datenstation, welche sich aus einem Monitor, einer Tastatur und dem Rechner zusammensetzt. Die gemessenen Daten werden mit der Software CD3500 in der Version 1.44 berechnet und die Ergebnisse graphisch dargestellt (*Abb. 2*).

Die Analyseeinheit enthält die Hardware für die Probeentnahme, die Verdünnung und die Analyse. Das Gerät bietet zwei Varianten der Vollblutentnahme. Zum einen gibt es die Möglichkeit, geschlossene Probenröhrchen mit oder ohne automatischem Probenehmer zu verwenden, zum anderen, die in dieser Arbeit ausschließlich zur Anwendung gekommene Methode, offene Probengefäße mittels einer Ansaugnadel einzusetzen (Bleul et al., 2002).



Abbildung 1: Cell-Dyn® 3500 CS (ABBOTT Diagnostika)

Das Ansaugvolumen aus den offenen Probenröhrchen liegt im Durchschnitt bei 130  $\mu$ l Vollblut, welches über ein Ventil in die einzelnen Messkanäle aufgeteilt wird.

Die Parameter des weißen Hämogramms werden in zwei getrennten Meßkanälen mittels unterschiedlicher Methoden bestimmt. Einerseits findet im Impedanzmesskanal die Widerstandsmessung zur Analyse der Leukozyten- und Lymphozytenkonzentration Verwendung, wie es ebenso bei der Bestimmung der Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentration zur Anwendung kommt. Hierbei wird die Probe mit einem Verdünnungsreagenz (Nr.: 99231, Fa. ABBOTT Diagnostics) versetzt und strömt anschließend durch eine Messöffnung, in der ein elektrischer Strom fließt. Durch die Widerstandsänderung bei Durchtritt einer Zelle, die sich als Nichtleiter verhält, kommt es zu

einem elektrischem Impuls. Somit entspricht die Anzahl der Zellen, welche die Messöffnung passieren, der Anzahl der Impulse. Die Amplitudenhöhe ist direkt proportional zum Zellvolumen, wobei gleichzeitig eine volumetrische Messung der Probe erfolgt, um die absolute Zellkonzentration exakt zu bestimmen (Bleul et al., 2002).

Die Ausgabe der ermittelten Zahlenwerte erfolgt durch die Datenstation und die Größenverteilungskurven werden in Form eines Histogrammes angezeigt (Abb. 2).

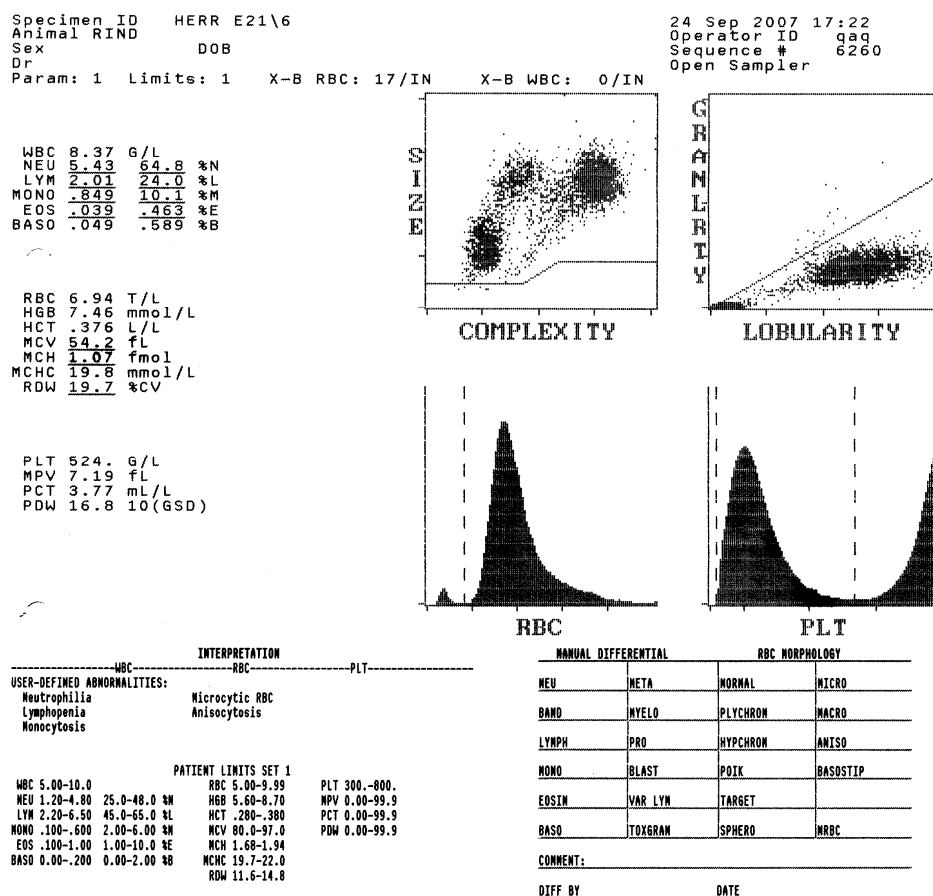


Abbildung 2: Darstellung der Daten in numerischer und graphischer Form  
(Ausdruck)

### 3.3.3 Bestimmung der Kortisolkonzentration

Für die Bestimmung des Cortisols im Blutplasma steht ein nach ABRAHAM (1972) bzw. KRATZSCH (1984) modifizierter  $^3\text{H}$ -Radioimmunoassay (RIA) im Isotopenlabor (AG



Endokrinologie) des Veterinär-Physiologisch-Chemischen Institut der Veterinärmedizinischen Fakultät Leipzig zur Verfügung.

Zuerst erfolgt die Abtrennung störender Eiweiße aus den Plasmaproben durch Fällung mit Alkohol. Dazu werden jeweils 100 µl Blutplasma (Doppelbestimmung) mit 900 µl Ethanol (abs., 99,8 Vol-%, unvergällt) versetzt und zentrifugiert. Vom Überstand werden 100 µl abpipettiert, diese über Nacht bei 37 °C eingedampft und mit 100 µl Phosphatpuffer aufgenommen. Parallel dazu erfolgt die Erstellung der Eichreihe (in Triplikaten). Für die Herstellung der Eichlösungen wird unmarkiertes Corticisol (Fa. Serva, Heidelberg) verwendet. Allen Röhrchen werden 100 µl verdünnte Tracerlösung ([1,2,6,7-<sup>3</sup>H]-Corticisol, Fa. Amersham) zugesetzt. Abschließend erfolgt die Zugabe eines hormonspezifischen Antikörpers (polyklonales Antiserum vom Kaninchen, laboreigene Immunisierung). Für die Bestimmung der unspezifischen Bindung wird anstatt des Antiserums Phosphatpuffer, zur Messung der Gesamtaktivität, nur Tracerlösung eingesetzt.

Die Ansätze werden 4 h im Eisbad inkubiert. Die anschließende Trennung von freiem und antikörpergebundenem Hormon erfolgt durch Zugabe von 500 µl einer Dextran-Aktivkohle-Suspension, die freie Steroide bindet. Nach 15-minütigem Stehen im Eisbad und Zentrifugation bei 4 °C wird der Überstand in Messgläschen abgegossen und mit 3 ml Szintillationsflüssigkeit (Rotiszint Mini, Carl Roth GmbH, Karlsruhe) versetzt. Die Messung der gebundenen Aktivität erfolgt im Flüssigszintillationszähler 1409 der Fa. Wallac (Landsberg). Zur Ermittlung der Hormonkonzentration in den Proben dient die Auswertesoftware „Multicalc“ der Fa. Wallac. Der Messbereich der Eichkurve liegt zwischen 1,6 und 50 ng/ml. Die untere Nachweisgrenze liegt bei 0,15 ng/ml.

### **3.3.4 Bestimmung der Schilddrüsenhormone (T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, fT<sub>3</sub>, fT<sub>4</sub>)**

Die Messung des Schilddrüsenhormongehaltes im Plasma geschieht mit Hilfe des Chemiluminescence Assay (Chiron Diagnostics ACS: 180, Ciba Corning Diagnostic GmbH, Fernwald).

Zum Einsatz kommen Chiron Diagnostics ACS: T<sub>3</sub>-, T<sub>4</sub>-, fT<sub>3</sub>- und fT<sub>4</sub>-Tests, wobei es sich um kompetitive Immunoassays unter Anwendung der direkten Chemiluminescence-Technologie handelt.

Das Schilddrüsenhormon, welches sich in der Probe befindet, konkurriert mit dem analogen Hormon um eine begrenzte Menge von Acridiniumester markiertem, monoklonalem Maus-Anti-T<sub>3</sub>, -T<sub>3</sub>-Analog-, -T<sub>4</sub> oder -T<sub>4</sub>-Analog-Antikörper. Das analoge Hormon ist kovalent an paramagnetische Partikel (PMP) in der Solid-Phase gebunden. Nach Ablauf der Inkubationszeit wird die Küvette einem Magnetfeld ausgesetzt und die PMP dadurch an der Küvettenwand fixiert.

Die nicht an die PMP gebundenen Bestandteile der Probe und der Reagenzien können so abgewaschen und getrennt werden. In der Küvette ist danach nur noch der Komplex aus PMP-Antikörper-Antigen beziehungsweise PMP-Antikörper-Antigen-Acridiniumester. Nun wird der Acridiniumester zuerst in einem sauren Medium durch Wasserstoffperoxid oxidiert. Die Zugabe einer Base initiiert die Chemilumineszenz-Reaktion, wobei die maximale Lichtemission bereits nach einer Sekunde abgeschlossen ist. Es besteht eine umgekehrte proportionale Beziehung zwischen der Menge des zu messenden Schilddrüsenhormons in der Patientenprobe und der Menge der vom System gemessenen relativen Lichteinheiten (RLU).

Zur Qualitätskontrolle wurden bei jedem Versuchsansatz drei definierte Liganden, den niedrigen (Ligand 1), mittleren (Ligand 2) und hohen (Ligand 3) Messbereichen entsprechend, mitgeführt und dienten als Interassay

### **3.4 Statistische Auswertung**

Die statistische Evaluierung wurde in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung des Fachbereiches Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen auf den Rechenanlagen des lokalen Rechnernetzwerkes (LAN) unter Verwendung des Statistik-Programms BMDP/Dynamic, Release 7.0 (Dixon, 1993) durchgeführt.

Die Beschreibung der Daten erfolgte tabellarisch unter Zuhilfenahme des Programms BMDP1D. Die Prüfung der Datensätze auf ihre Normalverteilung hin wurde mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Verfahrens durchgeführt. Bei angenäherter Normalverteilung wurden die arithmetischen Mittelwerte ( $\bar{x}$ ), Standardabweichungen (s), Minima ( $x_{\min}$ ), Maxima ( $x_{\max}$ ) und Stichprobenumfänge (n) berechnet. Bei rechtsschiefer Verteilung positiver quantitativer Merkmale musste eine logarithmische Transformation der Daten durchgeführt und diese dargestellt in der Form  $\bar{x}_g \cdot SF^{\pm 1}$ , vorgenommen werden.

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte für die Faktoren „Gruppe“ (Eutokie, Dystokie), gestörte postpartale Periode (ja, nein) und „Zeit“ (168 h a.p. bis 240 h p.p.). Bei angenähert normalverteilten Datensätzen wurde eine dreifaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung für den Faktor „Zeit“ mit dem Programm BMDP3V durchgeführt. Hierdurch konnten Unterschiede zwischen den drei Faktoren und deren Wechselwirkungen erkannt werden.

Die statistische Auswertung der Ergebnisse der Wiederfindungsversuche wurde mittels des Einstichproben-t-Testes durchgeführt.

Die Zusammenhänge zwischen den einzelnen Parametern wurden mit Hilfe von Korrelations- und Regressionsanalysen mit dem Programm BMDP6D unter Angabe des Korrelationskoeffizienten (r) und der Regressionsgeraden ( $y = m \cdot x + b$ ) beziehungsweise mit dem Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman ( $r_s$ ) überprüft.

Bei der Bewertung der statistischen Signifikanzen wurde das Signifikanzniveau  $\alpha = 0.05$  zu Grunde gelegt, so dass Ergebnisse mit  $p \leq 0,05$  als statistisch signifikant angesehen wurden. Zusätzlich wurde, sofern die Möglichkeit bestand, der exakte p-Wert angegeben.

## 4. Ergebnisse

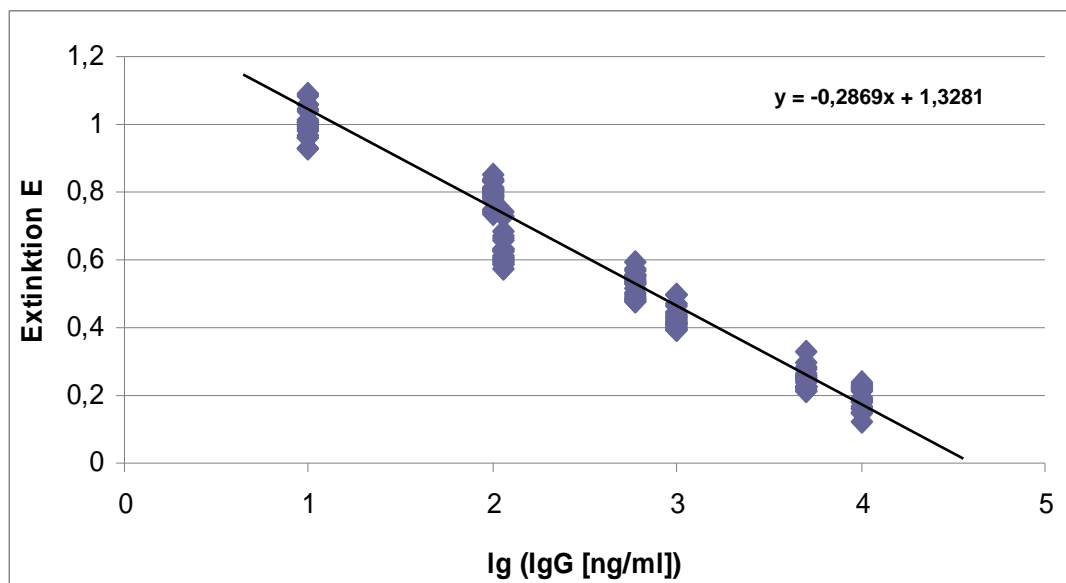
### 4.1 Berechnung der Eichgeraden

Die Eichgeraden wurden aus den Extinktionen von jeweils 20 Standardreihen für IgG und IgM gebildet. Auf Grund der Tatsache, dass die Urwerte eine große Streuung aufwiesen, mussten die IgG- und IgM-Konzentrationen der Standardreihen logarithmiert werden.

Bei der Korrelationsanalyse ergab sich ein Koeffizient von  $r = -0,986$  sowie eine hoch signifikante Korrelation der gemessenen Extinktionen mit dem Logarithmus der IgG-Konzentrationen der Standardverdünnungen ( $p < 0,001$ ). Nach Berechnung mit Hilfe der Regressionsanalyse für die IgG-Messung ließ sich eine Eichgerade der Gleichung

$$y = -0,2869x + 1,3281$$

ermitteln (Grafik 7).



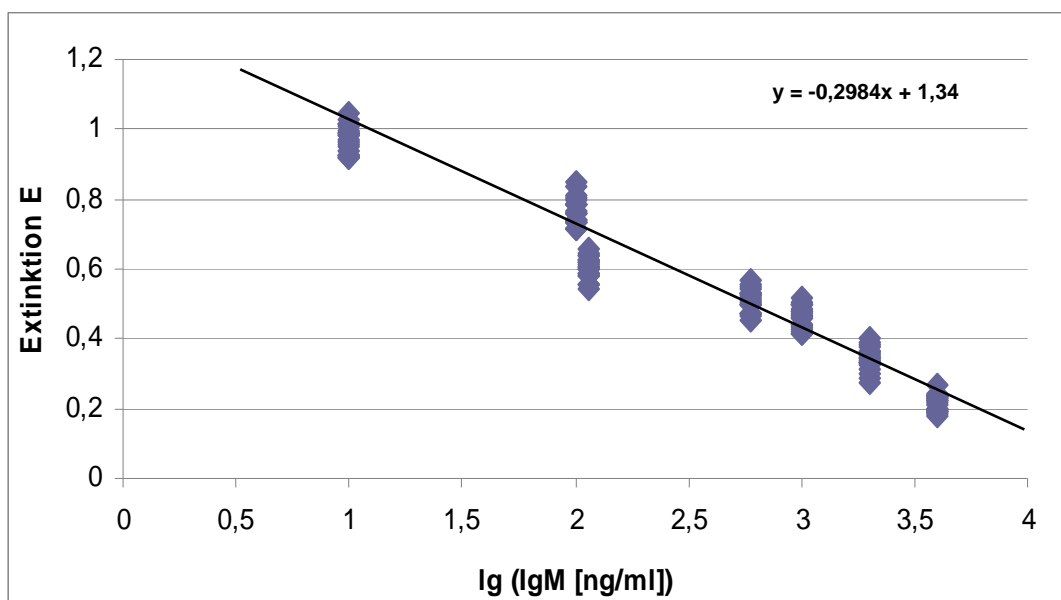
Grafik 7: Eichgerade für die IgG-Messung nach logarithmischer Transformation

Für die IgM-Bestimmung ließ sich aufgrund der Resultate der Regressionsanalyse eine Eichgerade mit der Gleichung

$$y = -0,2984x + 1,34$$

errechnen (Grafik 8).

Der Korrelationskoeffizient lautet  $r = -0,981$ . Auch in diesem Fall bestand eine hoch signifikante Korrelation der Extinktionen mit dem Logarithmus der IgM-Gehalte der Standardverdünnungen ( $p < 0,001$ ).



Grafik 8: Eichgerade für die IgM-Messung nach logarithmischer Transformation

Auf Grund der hoch signifikanten Korrelation der genannten Parameter war im Folgenden unter Anwendung der Gleichungen der Eichgeraden die Berechnung der IgG- respektive der IgM-Konzentration einer Probe aus den gemessenen Extinktionen möglich.

## 4.2 Ergebnisse der Wiederfindungsversuche

Die Wiederfindungsversuche dienten der Verifizierung und Verdeutlichung der Präzision der Methoden.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in den Tabellen 13 und 14 dargestellt. Sie wurden anhand des Einstichproben-t-Testes ausgewertet. Für die IgG-Bestimmung ergab sich ein t-Wert von 0,15 und für die IgM-Messung konnte ein t-Wert von 2,06 berechnet werden. Beide Werte liegen somit unterhalb des kritischen t-Wertes mit neun Freiheitsgraden (2,262). Somit konnten beide ELISAs in ihrer Richtigkeit bestätigt werden.

Tabelle 13: Darstellung der Ergebnisse der Wiederfindungsversuche für die IgG-Messung

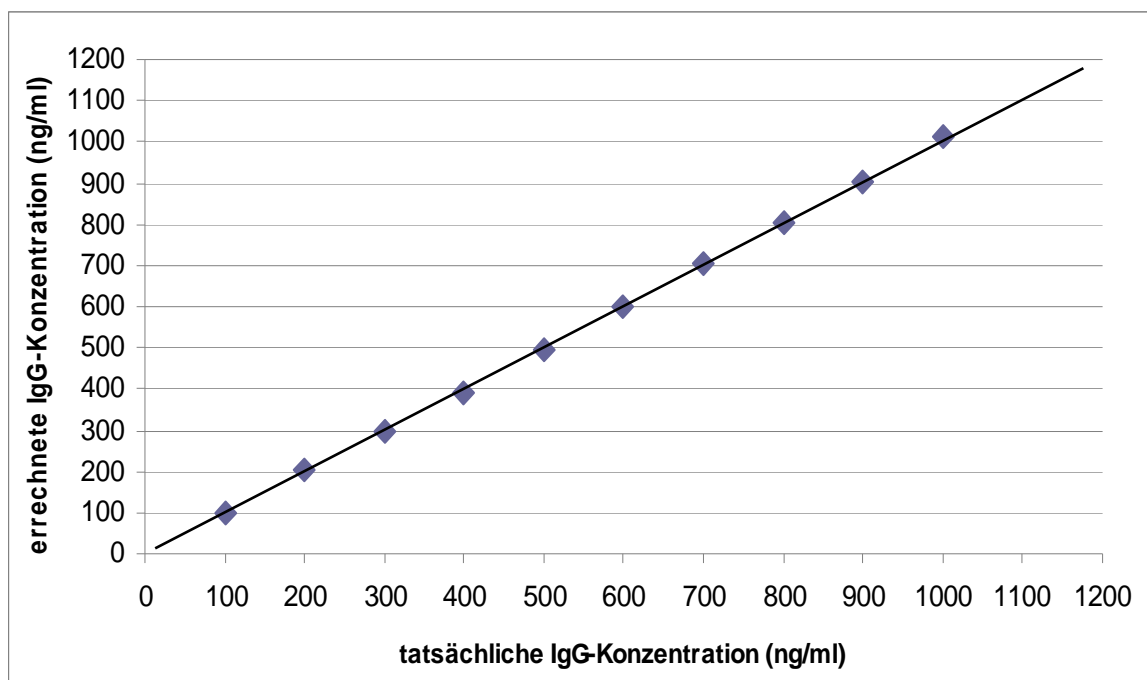
<b>Tatsächliche Antigenkon- zentration (IgG: ng/ml)</b>	<b>per Eichkurve ermittelte Extinktion = Sollwert</b>	<b>gemessene Extinktion = Istwert</b>	<b>arithmetisches Mittel der Extinktionen</b>	<b>berechneter IgG-Gehalt (ng/ml)</b>	<b>Differenz (ng/ml)</b>	<b>Differenz in %</b>
<b>100</b>	0,799	0,798 0,801 0,802	0,800	99,28	-0,72	-0,7
<b>200</b>	0,703	0,698 0,704 0,701	0,701	202,45	2,45	1,2
<b>300</b>	0,642	0,647 0,638 0,640	0,642	299,32	-0,68	-0,2
<b>400</b>	0,597	0,601 0,602 0,599	0,601	389,89	-10,11	-2,5
<b>500</b>	0,562	0,559 0,564 0,565	0,563	496,97	-3,03	-0,6
<b>600</b>	0,533	0,534 0,532 0,535	0,534	598,02	-1,98	-0,3
<b>700</b>	0,509	0,507 0,509 0,511	0,509	702,01	2,01	0,3
<b>800</b>	0,489	0,490 0,488 0,487	0,488	804,07	4,07	0,5
<b>900</b>	0,471	0,472 0,468 0,469	0,470	904,25	4,25	0,5
<b>1000</b>	0,455	0,451 0,454 0,455	0,453	1011,50	11,50	1,15

Tabelle 14: Darstellung der Ergebnisse der Wiederfindungsversuche für die IgM-Messung

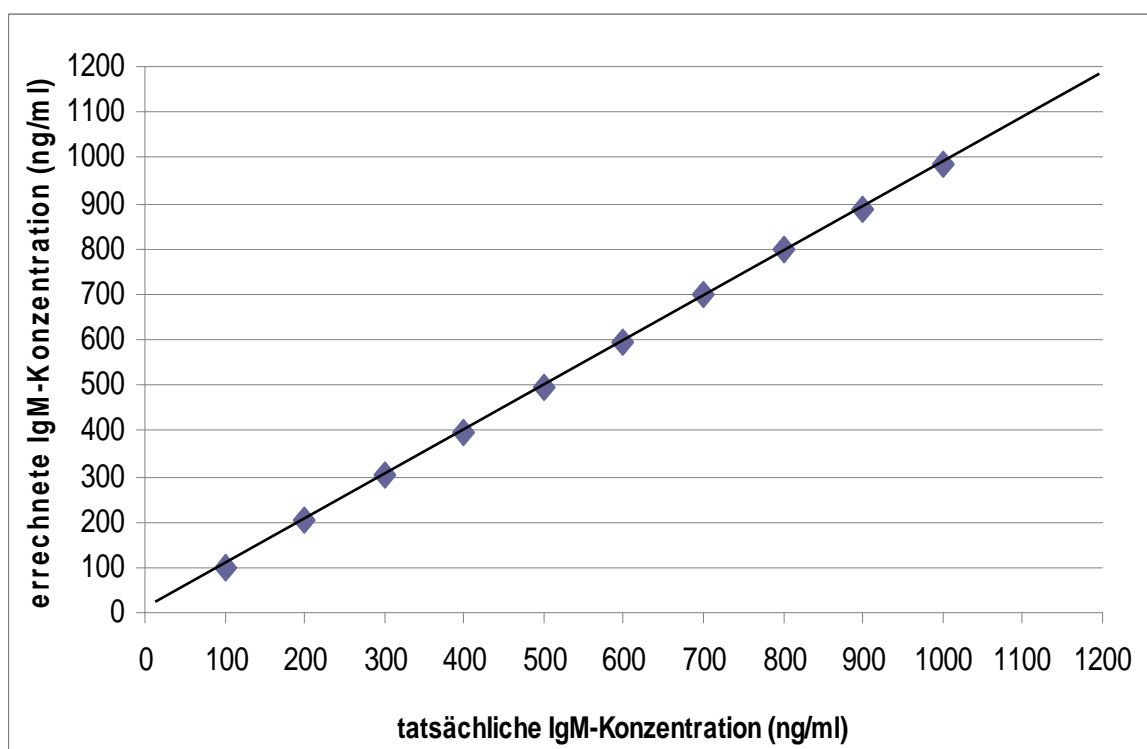
<b>Tatsächliche Antigenkon- zentration (IgG: ng/ml)</b>	<b>per Eichkurve ermittelte Extinktion = Sollwert</b>	<b>gemessene Extinktion = Istwert</b>	<b>arithmetisches Mittel der Extinktionen</b>	<b>berechneter IgG-Gehalt (ng/ml)</b>	<b>Differenz (ng/ml)</b>	<b>Differenz in %</b>
<b>100</b>	0,809	0,807 0,808 0,812	0,809	99,87	-0,13	-0,1
<b>200</b>	0,715	0,712 0,717 0,714	0,714	201,22	1,22	0,6
<b>300</b>	0,651	0,648 0,651 0,653	0,651	300,22	0,22	0,1
<b>400</b>	0,603	0,605 0,604 0,604	0,604	397,48	-2,52	-0,6
<b>500</b>	0,564	0,566 0,569 0,564	0,566	495,47	-4,53	-0,9
<b>600</b>	0,532	0,536 0,533 0,532	0,534	595,03	-4,97	-0,8
<b>700</b>	0,505	0,508 0,506 0,503	0,506	698,00	-2,00	-0,3
<b>800</b>	0,482	0,481 0,482 0,484	0,482	800,56	0,56	0,1
<b>900</b>	0,462	0,461 0,465 0,466	0,464	887,73	-12,27	-1,4
<b>1000</b>	0,443	0,447 0,444 0,446	0,446	985,15	-14,85	-1,5

Durch die graphische Gegenüberstellung der Ist- gegen die Sollwerte für die IgG- als auch für die IgM-Bestimmung wurde die gute Reproduzierbarkeit dieser Methoden unter Beweis gestellt (*Grafik 9 und 10*).

Mit Hilfe der Evaluierung durch die Wiederfindungsversuche konnte somit dargestellt werden, dass beide ELISAs auch mit anderen Chargen der Antigenlösungen eine hohe Präzision aufweisen.



Grafik 9: Darstellung der Ergebnisse der Wiederfindungsversuche für die IgG-Messung sowie der Winkelhalbierenden  $Y = X$



Grafik 10: Darstellung der Ergebnisse der Wiederfindungsversuche für die IgM-Messung sowie der Winkelhalbierenden  $Y = X$

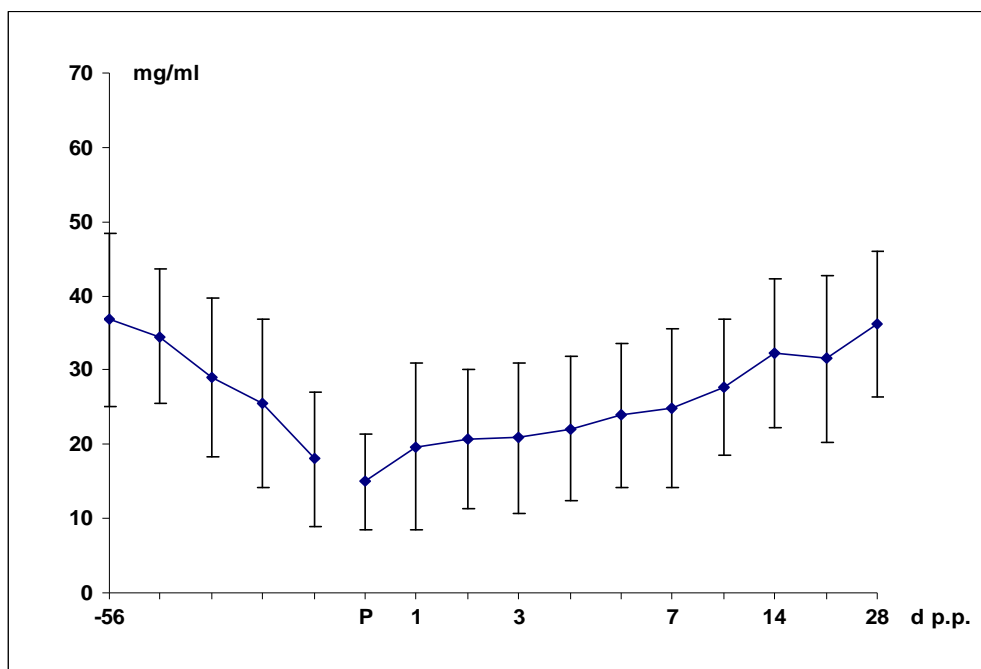


### 4.3 Intravasale Konzentrationen an Immunglobulin G und M

#### 4.3.1 Immunglobulin G – Bestimmung bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p.

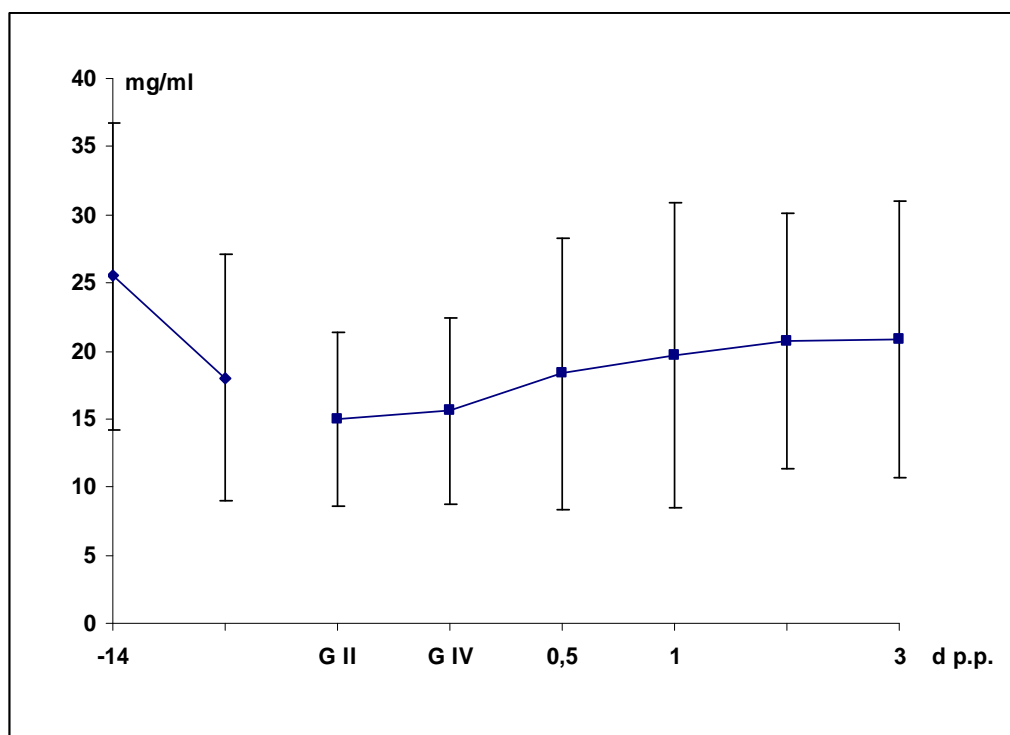
Zwischen dem Ende des siebten Monates der Gravidität und der Zeit unmittelbar ante partum kam es bei den in die Untersuchung einbezogenen Milchrindern zu einem rapiden, signifikanten Abfall der intravasalen IgG-Konzentrationen ( $36,8 \pm 11,6$  mg/ml auf  $18,0 \pm 9,1$  mg/ml;  $p < 0,001$ ). Gemessen vom ermittelten Ausgangswert im siebten Monat der Gravidität belief sich diese Reduktion bis einen Tag vor Geburt auf 51,1 %. Das absolute Minimum wurde mit  $15,0 \pm 6,4$  mg/ml in der partalen Phase erreicht (- 59,2 %).

Unmittelbar nach dem Partus stiegen die IgG-Gehalte zunächst verhalten bis zur ersten Woche post partum, dann allerdings bis zum Abschluss der vierten postpartalen Woche wieder steiler an. Am Ende des Untersuchungszeitraumes konnte mit  $36,2 \pm 9,9$  mg/ml ein Wert gemessen werden, der nahezu deckungsgleich mit dem des siebten Monates war (*Grafik 11*). Die Zunahme der intravasalen IgG-Konzentrationen zwischen der Geburt und der vierten Woche p.p. ist ebenfalls statistisch zu sichern gewesen ( $p < 0,001$ ).



Grafik 11: Verlauf der intravasalen IgG-Konzentrationen bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode (n = 18) von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p. (siehe Tabelle 1 Anhang)

Wird nur das enge peripartale Intervall in diese Betrachtung einbezogen, ist ersichtlich, dass die intravasalen Immunglobulinkonzentrationen schon unmittelbar nach Beginn der Austreibungsphase (G II) bis zur Expulsion der Frucht (G IV) wieder verhalten anstiegen. Bereits zwölf Stunden nach dem Partus pendelte sich der IgG-Level von  $15,0 \pm 6,4$  mg/ml i.p. auf ein Niveau um  $18,3 \pm 10,0$  mg/ml ein. Dies entspricht einer Konzentrationserhöhung um 20,2 % ( $p < 0,01$ ). Im weiteren Verlauf nahmen die durchschnittlichen intravasalen IgG-Konzentrationen bis zum zweiten Tag p.p. weiter auf  $20,8 \pm 9,4$  mg/ml zu ( $p < 0,01$ ). Zwischen dem zweiten und dritten Tag p.p. kam es vorübergehend zu einer Stagnation in der Kurvenentwicklung ( $20,9 \pm 10,2$  mg/ml) (*Grafik 12*). Im Anschluss daran setzte sich dann jedoch der fortlaufende Anstieg der intravasalen IgG-Gehalte fort ( $p < 0,001$ ).



Grafik 12: Verlauf der intravasalen IgG-Konzentrationen bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode (n = 18) von der zweiten Woche a.p. bis zum dritten Tag p.p. (siehe Tabelle 1 Anhang)

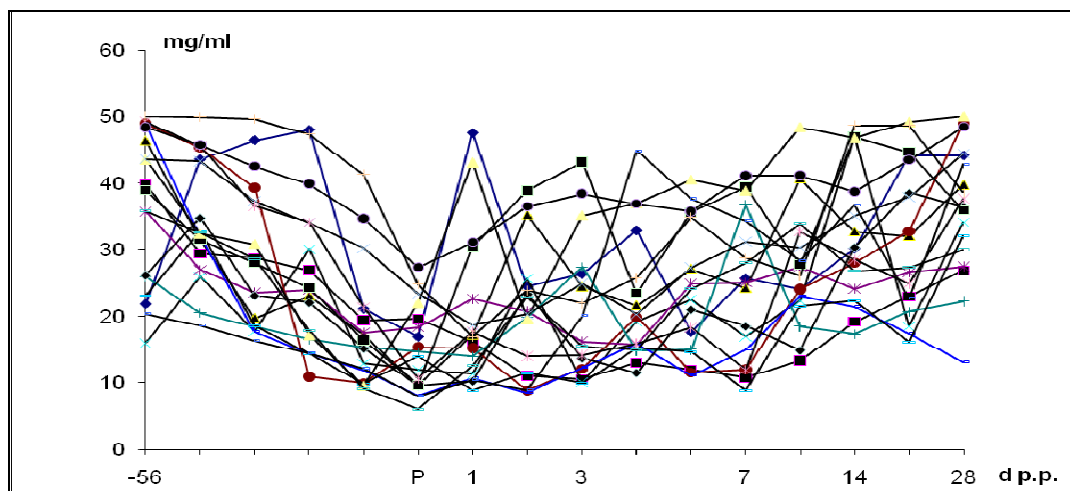
G II = Beginn der Austreibungsphase

G IV = Ende der Austreibungsphase

Die ausgeprägte Streuung der Einzelwerte an den jeweiligen Messpunkten bedingte eine relativ hohe Standardabweichung, wobei die Überprüfung ergab, dass dadurch die Normalverteilung nicht beeinträchtigt war. Dies war Anlass, die Kurvenschar einer näheren, differenzierteren Betrachtung zu unterziehen (*Grafik 13*). Dabei stellte sich heraus, dass lediglich sieben der 18 Tiere mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode einen Abfall der intravasalen Immunglobulinkonzentrationen von  $> 25$  mg/ml, beginnend am Ende des siebten Monates der Gravidität bis zur Geburt, hatten (*Tab. 15*). Die restlichen elf Rinder wiesen eine Absenkung der IgG-Titer im Blut auf, die deutlich unter 25 mg/ml lag. (*Tab. 15*). Zu überprüfen war daher, welchen Einfluss zum einen der Ausgangskonzentration, zum anderen der Geburtsziffer dabei zuzuweisen ist.

Tabelle 15: Absoluter präpartaler Abfall (von der achten Woche a.p. bis zum Partus) der intravasalen IgG-Konzentrationen von 18 Probanden mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode

<b>Proband</b>	<b>präpartaler intravasaler IgG-Abfall (mg/ml)</b>
E 11	40,7
E 17	38,5
E 6	36,8
E 9	33,5
E 21	29,7
E 14	29,2
E 19	25,2
E 15	21,5
E 18	21,0
E 16	20,3
E 5	20,2
E 8	17,4
E 13	16,6
E 20	12,4
E 10	11,3
E 12	9,1
E 1	4,9
E 7	4,0

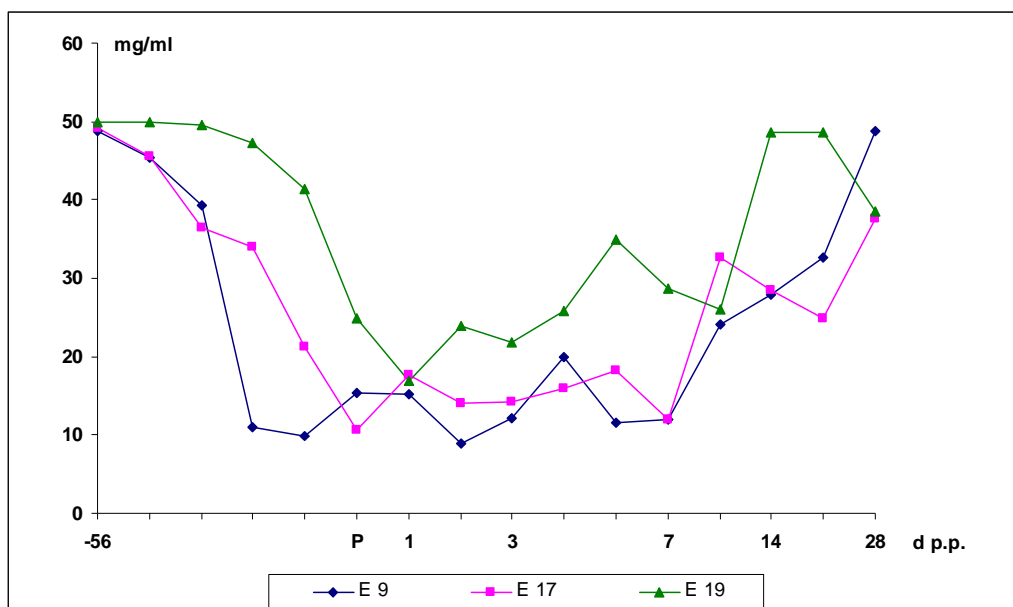


Grafik 13: Kurvenschar der intravasalen IgG-Konzentrationen aller Probanden mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode (n = 18) von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p. (siehe Tabelle 1 Anhang)

Zuerst wurden drei Tiere mit den höchsten (E 9, E 17, E 19) und den jeweils niedrigsten (E 7, E 12, E 20) Ausgangskonzentrationen acht Wochen a.p. einer genaueren Analyse unterzogen. Sie waren im Alter von zwei bis vier Jahren (höchste Ausgangskonzentrationen) sowie von vier bis sechs Jahren (niedrigste Ausgangskonzentrationen) und waren im Zustand der ersten bis dritten (höchste Ausgangskonzentrationen) sowie der dritten bis fünften (niedrigste Ausgangskonzentrationen) Gestation. Dabei fiel auf, dass die Rinder mit der höchsten Ausgangskonzentration an IgG (um 50 mg/ml) am Ende des siebten Monats der Gravidität einen kontinuierlichen aber steileren Abfall der IgG-Werte bis zur Geburt hin zeigten als die Probanden mit den niedrigeren 7-Monats-Konzentrationen. Alle drei Rinder hatten einen präpartalen Abfall der intravasalen IgG-Konzentration von über 25 mg/ml. Die Probanden E 9 / E 17 unterlagen hierbei einem Abfall des intravasalen IgG-Levels von 48,9 (E 9) / 49,2 (E 17) mg/ml im siebten Monat der Gravidität auf 9,9 mg/ml einen Tag vor der Geburt (E 9) beziehungsweise auf 10,1 mg/ml (E 17) unter der Geburt. Dies entsprach einer Reduktion von 39,0 (E 9) / 39,1 (E 17) mg/ml respektive 79,8 % (E 9) / 79,5 % (E 17). Dem gegenüber blieb die intravasale IgG-Konzentration bei dem dritten Tier (E 19) zwischen der achten und vierten Woche a.p. relativ konstant bei Werten um 50 mg/ml, die jedoch dann von der vierten Woche a.p. an stark abfielen. Allerdings setzte sich der Abfall bis zum ersten Tag nach der Geburt auf 16,9 mg/ml (- 55,1 %) fort und endete nicht schon sub partu.

Nach dem Partus war bei diesen drei Milchrindern eine kurzfristige Periode, die bis zum Ende der ersten Woche andauerte, zu verzeichnen, in dem die IgG-Konzentrationen nur eine sehr protrahierte Zunahme aufwiesen. Erst danach war wieder ein kontinuierlicher steiler Anstieg bis zur vierten Woche p.p. zu erkennen. Die IgG-Konzentrationen am Ende des Untersuchungszeitraumes (vierte Wochen p.p.) glichen nahezu denen der achten Woche vor der Geburt (*Grafik 14*).

Die Tiere mit den höchsten präpartalen Ausgangswerten und rasanten IgG-Abfall wiesen gleichzeitig sehr hohe IgG-Konzentrationen im Kolostrum auf (E 17: 122,5 mg/ml Kolostrum; E 19: 95,4 mg/ml Kolostrum). Eine Ausnahme stellte der Proband E 9 dar, der trotz des hohen präpartalen IgG-Abfalles nur über eine kolostrale IgG-Konzentration von 33,1 mg/ml verfügte.



Grafik 14: Verlauf der intravasalen IgG-Konzentrationen bei den Tieren (n = 3), bei denen die höchsten IgG-Ausgangswerte acht Wochen a.p. zu bestimmen waren (siehe Tabelle 1 Anhang)

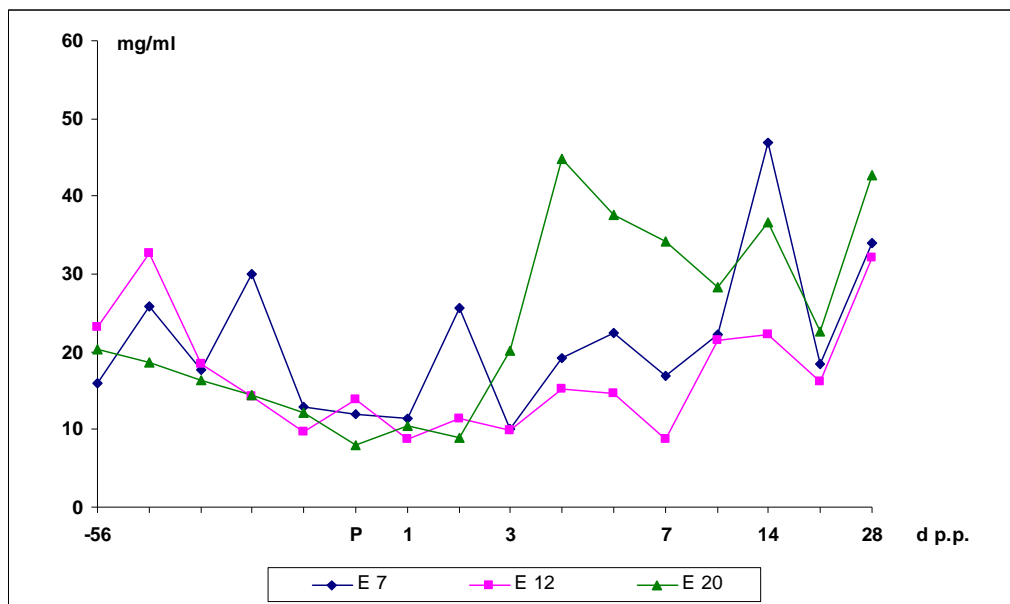
Im Vergleich dazu wurden drei Tiere mit den niedrigsten IgG-Konzentrationen acht Wochen vor der Geburt (E 7, E 12, E 20) ausgewählt. Ihr Alter lag zwischen vier bis sechs Jahren und sie waren zum dritten bis fünften Mal gravid. Von diesen zeigte nur ein Rind (E 20) einen

kontinuierlichen Abfall bis zum Partus. Wenn der Ausgangswert hierbei gleich 100 % gesetzt wird, entspricht der präpartale Abfall (20,3 mg/ml auf 7,9 mg/ml) bis zum Partus 61,1 %. Die anderen zwei Probanden wiesen ab der Trockenstellung zunächst einen Anstieg der IgG-Konzentrationen (E 12: 23,1 mg/ml auf 32,7 mg/ml; E 7: 16,0 mg/ml auf 25,9 mg/ml) und erst ab sechs (E 12) respektive zwei (E 7) Wochen a.p. einen Abfall bis zum Partus auf (E 12: 14,0 mg/ml; E 7: 11,9 mg/ml). Auch in der postpartalen Periode zeigten die IgG-Werte sehr stark schwankende Konzentrationen. Steilen Anstiegen der intravasalen IgG-Konzentrationen folgten im Wechsel wiederum starke Abfälle. Jedoch lässt sich eine Tendenz zur Zunahme der IgG-Titer im postpartalen Verlauf erkennen. Dieser ist allerdings wesentlich protrahierter als in der Gruppe der Probanden mit den höchsten Ausgangskonzentrationen am Ende des siebten Monats der Gravidität. Trotzdem liegen die Konzentrationen des intravasalen IgG vier Wochen nach der Geburt deutlich über denen acht Wochen a.p. (*Grafik 15*).

Zwei der Tiere mit dem niedrigsten präpartalen IgG-Abfall wiesen gleichzeitig sehr niedrige IgG-Konzentrationen im Kolostrum auf (E 12: 36,0 mg/ml Kolostrum; E 20: 35,6 mg/ml Kolostrum). Eine Ausnahme stellt das Milchrind E 7 dar, welches einen IgG-Gehalt von 69,6 mg/ml im Kolostrum hatte.

Erwähnenswert ist, dass der Proband mit dem größten Gehalt an IgG in der achten Woche a.p. (E 19) eine 313,3 % höhere IgG-Konzentration hatte als das Tier mit dem niedrigsten Wert im siebten Monat der Gravidität (E 7) (siehe Tabelle 1 Anhang).

Allerdings endete der präpartale intravasale Abfall der IgG-Konzentration, unabhängig von der Höhe der Ausgangskonzentration am Ende des siebten Monats der Gravidität, auf einem Konzentrationsniveau um 9,0 mg/ml und sank nicht weiter ab.



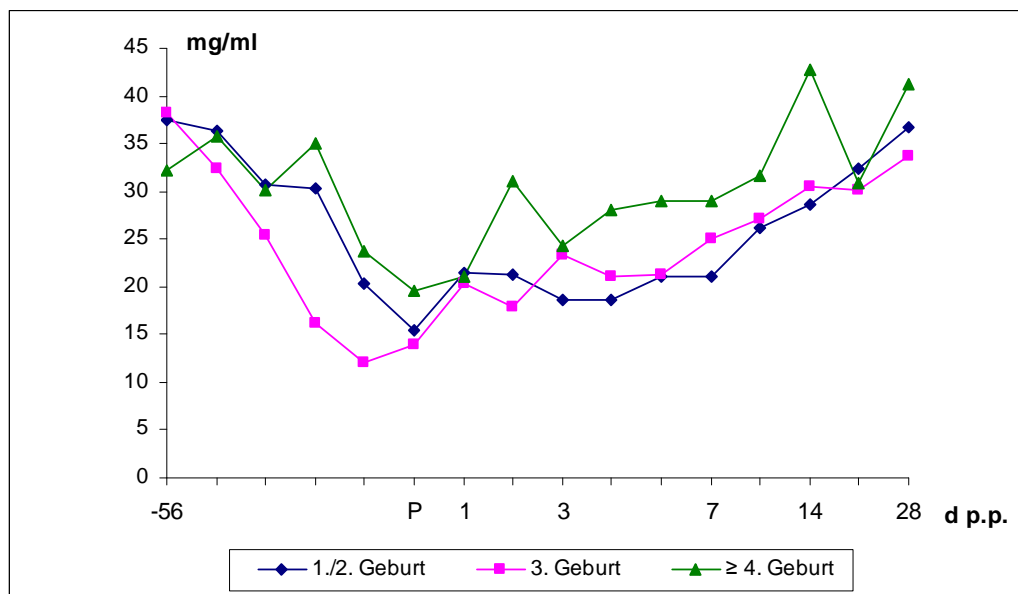
Grafik 15: Verlauf der intravasalen IgG-Konzentrationen bei den Tieren (n = 3), bei denen die niedrigsten IgG-Ausgangswerte acht Wochen a.p. zu bestimmen waren (siehe Tabelle 1 Anhang)

Betrachtet man nun die absoluten intravasalen IgG-Konzentrationen in der achten Woche vor dem Partus in Abhängigkeit zur Parität zeigte sich, dass der durchschnittliche IgG-Gehalt bei den Tieren, die erstmals oder zum zweiten Mal gravid waren (37,3 mg/ml) nahezu deckungsgleich mit dem der Tiere mit der dritten Gravidität (37,4 mg/ml) war (*Tab. 16*). Das gleiche Phänomen war bei den durchschnittlichen präpartalen Abfällen (vom siebten Monat der Gravidität bis zum Partus) der IgG-Level im Blut zu beobachten. Während Rinder mit der ersten und zweiten Gravidität einen durchschnittlichen antepartalen Abfall der intravasalen IgG-Konzentration von 23,1 mg/ml (59,1 %) hatten, wiesen die Kühe mit der dritten Gravidität eine durchschnittliche Reduktion von 22,9 mg/ml (59,0 %) auf (*Grafik 16*).

Jene Tiere mit einer Geburtenziffer  $\leq 4$  hatten dagegen eine niedrigere Ausgangskonzentration an IgG (32,1 mg/ml) in der achten Woche ante partum. Auch der präpartale Abfall der intravasalen IgG-Gehalte (vom siebten Monat der Gravidität bis zum Partus) war mit 12,5 mg/ml respektive 34,3 % deutlich niedriger als bei den anderen Paritäten (*Tab. 16*). Allerdings muss bedacht werden, dass es sich hierbei nur um eine Kuh mit der vierten und eine mit der fünften Gravidität handelte.

Tabelle 16: Durchschnittlicher Gehalt (achte Woche a.p.) und präpartaler Abfall (von der achten Woche a.p. bis zum Partus) der intravasalen IgG-Konzentrationen in Abhängigkeit von der Geburtenziffer

Parität	n	durchschnittliche IgG-Konzentration in der achten Woche a.p. (mg/ml)	durchschnittlicher präpartaler intravasaler IgG-Abfall (mg/ml)	durchschnittlicher präpartaler intravasaler IgG-Abfall (%)
$\leq 2$	8	37,3	23,1	59,1
3	8	37,4	22,9	59,0
$\geq 4$	2	32,1	12,5	34,3



Grafik 16: Verlauf der durchschnittlichen intravasalen IgG-Konzentration bei den Tieren mit der ersten und zweiten Geburt (n = 8) im Vergleich zu denen mit der dritten Geburt (n = 8) und  $\geq 4$ . Geburt (n = 2)

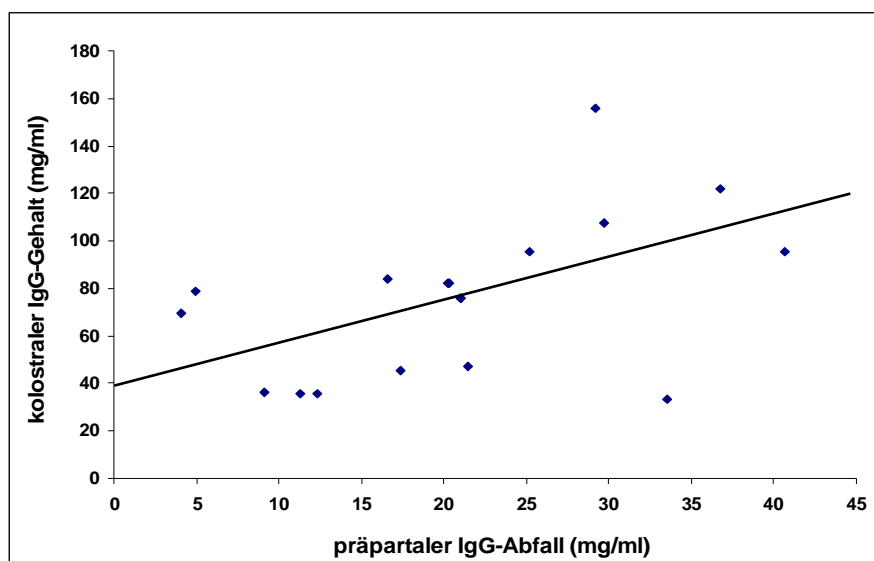
Im Weiteren war zu überprüfen, ob eine Korrelation zwischen der Verminderung an intravasalem IgG innerhalb der Trockenstehperiode und der Konzentration an IgG im Kolostrum besteht.



Bei vergleichender Betrachtung der Konzentrationsänderungen des IgG im Blut vom siebten Monat der Gravidität bis zur Geburt mit dem IgG-Gehalt im Erstgemelk war zu erkennen, dass Rinder, die den ausgeprägtesten intravasalen Abfall der IgG-Konzentrationen in der Trockenstehperiode (siebter Monat der Gravidität bis zum Partus) hatten, auch die größte Konzentration an Immunglobulin G im Kolostrum aufwiesen ( $p = 0,016$ ). Die Regressionsgerade hat die Formel  $Y = 1,76x + 39,87$  mit einem Korrelationskoeffizient von  $r = 0,56$  (Grafik 17).

Ausgehend von den Durchschnittskonzentrationen war ersichtlich, dass die sieben Tiere mit einem präpartalen Abfall der intravasalen IgG-Level von  $> 25$  mg/ml einen durchschnittlichen IgG-Gehalt von 104,6 mg/ml in Kolostrum aufzeigten. Bei den restlichen elf Rinder mit einer Reduktion  $< 25$  mg/ml lag eine durchschnittliche kolostrale IgG-Konzentration von 61,1 mg/ml vor (Grafik 17).

Dies spiegelte sich auch in den Einzelkonzentrationen wider. Der Proband Nummer E 12, welcher einen präpartalen IgG-Abfall von lediglich 9,1 mg/ml respektive 39,6 % zeigte, hatte auch im Kolostrum nur eine IgG-Konzentration von 36,0 mg/ml. Dem gegenüber stand das Tier mit der Nummer E 17, bei dem eine Reduktion der intravasalen IgG-Titer von 38,5 mg/ml respektive 78,4 % nachzuweisen war. Dieses hatte einen kolostralen IgG-Gehalt von 122,5 mg/ml (Tab. 17).



Grafik 17: Korrelation zwischen dem intravasalen IgG-Abfall in der Trockenstehperiode und dem Gehalt im Kolostrum von 18 Milchkühen mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode im Alter von  $4,0 \pm 1,4$  Jahren

Allerdings gab es erhebliche individuelle Unterschiede. So stellten die Probanden E 14, E 9, E 1 und E 7 Ausnahmen dar. Während das Tier E 14 bei einem präpartalen IgG-Abfall von 29,2 mg/ml im Blut die höchste kolostrale IgG-Konzentration von 156,1 aufzeigte, hatte das Rind E 9 bei einer Reduktion der intravasalen IgG-Titer von 33,5 mg/ml in der Trockenstehperiode nur einen IgG-Gehalt von 33,1 mg/ml im Kolostrum (*Tab. 17*). Die Probanden E 1 und E 7 hatten dagegen eine kolostrale IgG-Konzentration von 79,1 mg/ml (E 1) respektive 69,6 mg/ml (E 7) bei einer Reduktion der intravasalen IgG-Level in der Trockenstehperiode von 4,9 mg/ml (E 1) bzw. 4,0 mg/ml (E 7).

Tabelle 17: Präpartaler Abfall (von der achten Woche a.p. bis zum Partus) der intravasalen IgG-Konzentrationen im Vergleich zu den kolostralen IgG-Gehalten bei Milchkühen (n = 18) im Alter von  $4,0 \pm 1,4$  Jahren (Angaben in mg/ml)

<b>Proband</b>	<b>intravasale IgG- Konzentration acht Wochen a.p.</b>	<b>präpartaler intravasaler IgG-Abfall (bis i.p.)</b>	<b>intravasale IgG- Konzentration i.p.</b>	<b>kolostrale IgG- Konzentration</b>
E 11	48,8	40,7	8,1	95,6
E 17	49,2	38,5	10,6	122,5
E 6	46,4	36,8	9,6	122,0
E 9	48,9	33,5	15,4	33,1
E 21	35,8	29,7	6,0	107,6
E 14	38,9	29,2	9,6	156,1
E 19	50,0	25,2	24,8	95,4
E 15	43,5	21,5	22,0	47,4
E 18	48,3	21,0	27,3	75,8
E 16	43,6	20,3	23,3	82,0
E 5	39,8	20,2	19,6	82,3
E 8	35,7	17,4	18,3	45,2
E 13	26,1	16,6	9,5	83,8
E 20	20,3	12,4	7,9	35,6
E 10	25,9	11,3	14,6	35,4
E 12	23,1	9,1	14,0	36,0
E 1	21,8	4,9	16,9	79,1
E 7	16,0	4,0	11,9	69,6

Eine andere Auswertungsmöglichkeit bietet der prozentuale Abfall der intravasalen IgG-Konzentrationen im Vergleich zu den intrapartalen kolostralen IgG-Gehalten (*Tab. 18*).

Tabelle 18: Prozentualer präpartaler Abfall (von der achten Woche a.p. bis zum Partus) der intravasalen IgG-Konzentration im Vergleich zum kolostralen IgG-Gehalt bei Milchkühen (n = 18) im Alter von  $4,0 \pm 1,4$  Jahren

<b>Proband</b>	<b>präpartaler intravasaler IgG-Abfall (%)</b>	<b>kolostrale IgG- Konzentration (mg/ml)</b>
E 11	83,4	95,6
E 21	83,1	107,6
E 6	79,3	122,0
E 17	78,4	75,8
E 14	75,2	156,1
E 9	68,5	33,1
E 13	63,5	83,8
E 20	60,9	35,6
E 19	51,4	95,4
E 5	50,8	82,3
E 15	49,5	47,4
E 8	48,7	45,2
E 16	46,6	82,0
E 10	43,6	35,4
E 18	43,5	75,8
E 12	39,6	36,0
E 7	25,0	69,6
E 1	22,5	79,1

Dabei wird ersichtlich, dass ein relativ starker prozentualer Abfall der IgG-Werte in der Trockenstehphase nicht per se mit einem absolut hohen kolostralen IgG-Gehalt einhergeht. Dies ist nur dann der Fall, wenn auch eine ausgeprägte Reduktion der absoluten Konzentrationen gegeben ist. Während das Tier E 11 bei einem präpartalen Abfall der

intravasalen IgG-Level von 83,4 % eine IgG-Konzentration von 95,6 mg/ml im Kolostrum aufwies, hatte der Proband E 12 bei einem Abfall von 39,6 % in der Trockenstehphase einen kolostralen IgG-Gehalt von 36,0 mg/ml. Jedoch zeigten diese Rinder auch einen hohen (E 11: 40,7 mg/ml) respektive geringen (E 12: 9,1 mg/ml) Abfall der intravasalen IgG-Konzentration von der achten Woche a.p. bis zum Partus.

Dem gegenüber stand das Tier E 20 mit einer prozentualen Reduktion der IgG-Level im Blut von 60,9 % in der präpartalen Periode und einem IgG-Gehalt im Erstgemelk von 35,6 mg/ml. Allerdings reduzierte sich bei diesem Proband die intravasale IgG-Konzentration nur um 12,4 mg/ml.

Der prozentuale Abfall der IgG-Titer im Blut von Rindern in der Trockenstehperiode ist nicht mit der kolostralen IgG-Konzentration korreliert und somit kein Maß für die zu erwartenden IgG-Konzentration in der Biestmilch (*Tab. 18*). Bestimmend dafür sind die Ausgangskonzentration von IgG am Ende des siebten Monates der Gravidität und die damit verbundene absolute Reduktion des IgG-Levels bis zur Geburt.

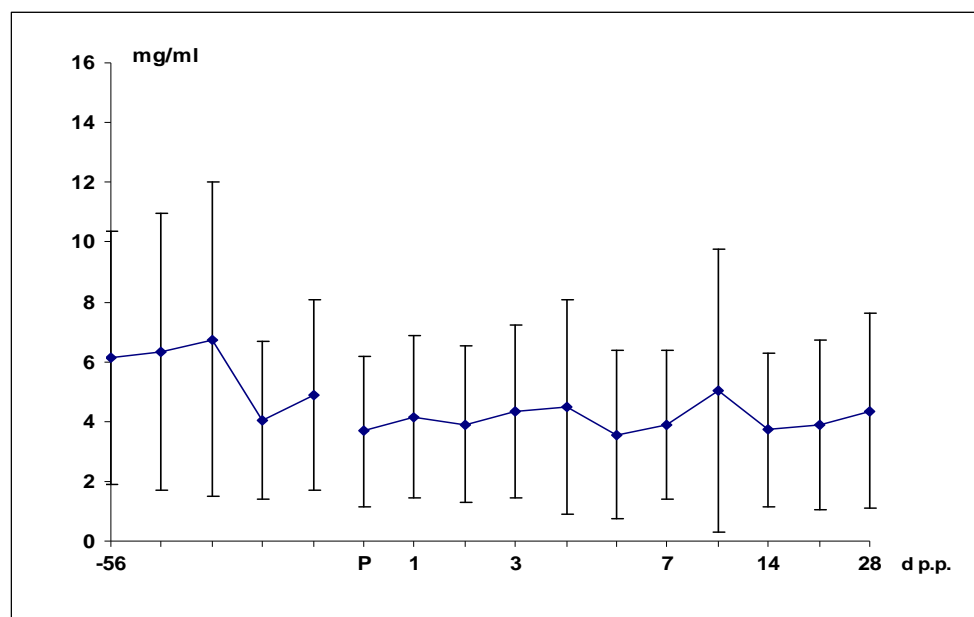
#### **4.3.2 Immunglobulin M – Bestimmung bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p.**

Neben den IgG-Werten wurden im Rahmen dieser Untersuchung auch die IgM-Konzentrationen in der Zeit vom Ende des siebten Monates der Gravidität bis zur vierten Woche p.p. bei Milchrindern mit problemloser Trächtigkeit, Geburt und postpartaler Periode bestimmt. Dabei stellte sich als auffälligstes Merkmal heraus, dass die IgM-Konzentrationen von der Trockenstellung bis zur vierten Woche vor der Geburt auf annähernd gleichem Niveau verharrten (6 bis 7 mg/ml), was im Gegensatz zu dem steten präpartalen Abfall der intravasalen IgG-Level ab dem Ende des siebten Monates der Trächtigkeit steht. Dabei war sogar die Tendenz einer geringgradigen Zunahme zu erkennen. Die arithmetischen Mittelwerte stiegen von  $6,1 \pm 4,2$  mg/ml in der achten Woche a.p. auf  $6,7 \pm 5,3$  mg/ml in der vierten Woche a.p. an.

Erst im letzten Graviditätsmonat kam es vorübergehend zu einem rapiden Abfall der intravasalen IgM-Konzentrationen auf  $4,0 \pm 2,6$  mg/ml, wobei dieser nur bis zur zweiten Woche vor dem Partus anhielt. Es folgte ein geringfügiger, vorübergehender Anstieg auf  $4,9 \pm 3,2$  mg/ml bis zu einem Tag ante partum (*Grafik 18*). Unter der Geburt verringerten sich die Werte, so dass in dieser Phase ein Minimum der IgM-Konzentration vorlag ( $3,7 \pm 2,5$  mg/ml). Es konnte also festgestellt werden, dass intrapartal die niedrigsten intravasalen und IgM-Konzentrationen vorliegen.

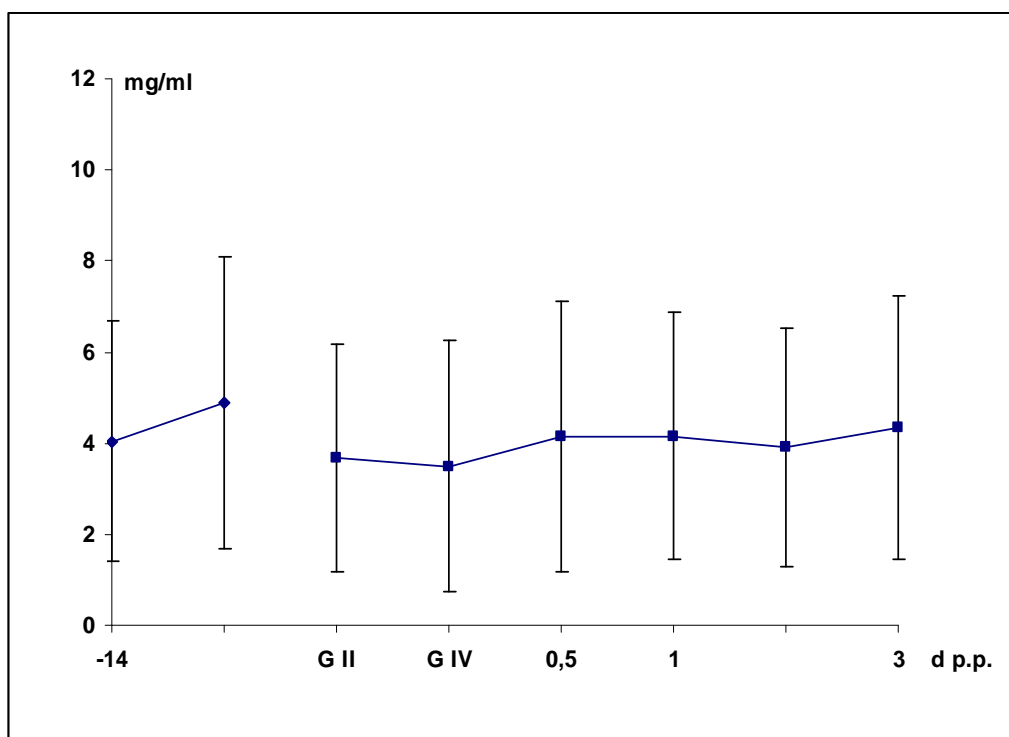
Gemessen vom Ausgangswert in der vierten Woche vor dem Partus belief sich die Gesamtreduktion der IgM-Konzentrationen bis zur Geburt auf 45,4 %, ein Wert, welcher statistisch zu sichern war ( $p < 0,001$ ). Im darauffolgenden postpartalen Abschnitt blieben die intravasalen IgM-Titer bis zur vierten Woche, dem Ende des Untersuchungszeitraumes, auf einem relativ konstant niedrigen Niveau zwischen 3,5 mg/ml und 5,0 mg/ml (*Grafik 18*). Es kam in dieser Zeit zu keinen statistisch zu sichernden Zu- oder Abnahmen ( $p = 0,77$ ).

Aus der Gesamtbeurteilung der Untersuchungen ist abzuleiten, dass keine Verlaufsparellitäten zwischen IgG und IgM vorliegen. Dies bezieht sich sowohl auf die ante- als auch postpartale Periode.



Grafik 18: Verlauf der intravasalen IgM-Konzentrationen bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode ( $n = 18$ ) von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p. (siehe Tabelle 1 Anhang)

Wird nur das enge peripartale Intervall einer Analyse unterzogen, ist erkennbar, dass die intravasalen IgM-Konzentrationen, konträr zu denen des IgG, unter dem Geburtsgeschehen, also zwischen Beginn und Ende der Austreibungsphase (Stadium II der Geburt), bis zum Beginn der Nachgeburtsphase noch geringfügig abfielen. Erst zu diesem Zeitpunkt wurde mit  $3,5 \pm 2,8$  mg/ml das absolute Minimum der IgM-Gehalte erreicht ( $p < 0,001$ ). Dagegen hatten die IgG-Werte ihr Konzentrationsminimum bereits zu Beginn der Austreibungsphase und zeigten bis zum Geburtsende, im Gegensatz zum IgM, sogar eine geringgradige Erhöhung. Nach der Expulsion des Kalbes kam es bis zum dritten Tag nach dem Partus zu keiner signifikanten Entwicklung der durchschnittlichen intravasalen IgM-Level ( $p > 0,05$ ). Die Gehalte lagen in einem engen Konzentrationsbereich um 4,0 mg/ml (*Grafik 19*).



Grafik 19: Verlauf der intravasalen IgM-Konzentrationen bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode ( $n = 18$ ) von der zweiten Woche a.p. bis zum dritten Tag p.p. (siehe Tabelle 1 Anhang)

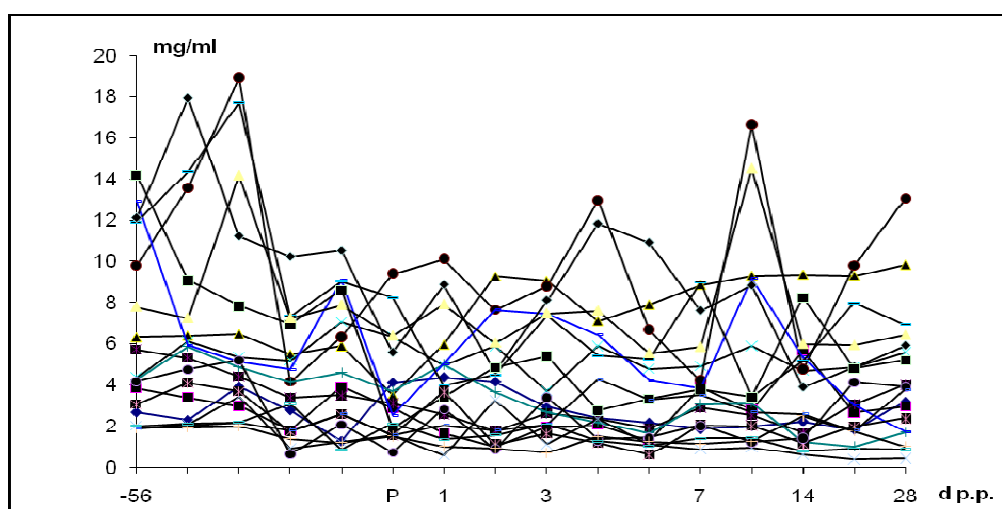
G II = Beginn der Austreibungsphase

G IV = Ende der Austreibungsphase

Ähnlich wie bei Konzentrationsverläufen der Einzeltiere beim IgG waren auch die individuellen Kurvenverläufe für das IgM sehr different, was sich in den relativ hohen Standardabweichungen niederschlug. Die Überprüfung der Einzelwerte ergab allerdings, dass sie eine Normalverteilung aufwiesen.

Dies war der Grund, die Kurvenschar einer differenzierten Betrachtung zu unterziehen (*Grafik 20*). Dabei konnte ermittelt werden, dass schon die Ausgangskonzentrationen nach abgeschlossener Laktation (achte Woche a.p.) eine erhebliche individuelle Varianz, die von 1,9 mg/ml bis 14,2 mg/ml schwankte, aufwiesen (siehe Tabelle 1 Anhang).

Neben diesen hohen Differenzen im Bereich der Ausgangskonzentrationen, waren auch Verlaufsscharakteristiken bei den Einzeltieren gegeben, die sich in drei Gruppen klassifizieren ließen. Von den 18 Milchrinder mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode hatten lediglich sechs einen Abfall der intravasalen IgM-Konzentrationen von  $> 4$  mg/ml von der vierten Woche a.p. bis zum Partus (*Tab. 19*). Weitere sechs Tiere zeigten in dieser Zeitspanne eine Absenkung der intravasalen IgM-Titer, die zwischen 1,0 mg/ml und 4,0 mg/ml lagen. Bei den restlichen sechs Rindern lagen die Abnahmen unter 1,0 mg/ml, wobei bei zwei Kühen (E 1, E 7) sogar eine Zunahme der intravasalen IgM-Konzentrationen in der präpartalen Periode zu verzeichnen war, gemessen vom Wert in der vierten Woche a.p. bis intra partum (*Tab. 19*).



Grafik 20: Kurvenschar der intravasalen IgM-Konzentrationen aller Probanden mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode (n = 18) von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p. (siehe Tabelle 1 Anhang)

Tabelle 19: Absoluter präpartaler Abfall (Zeitraum vierte Woche a.p. bis zum Partus) der intravasalen IgM-Konzentrationen von 18 Probanden mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode

<b>Proband</b>	<b>präpartale intravasale IgM-Veränderung (mg/ml)</b>
E 12	- 9,5
E 9	- 9,5
E 15	- 7,8
E 14	- 5,9
E 13	- 5,6
E 18	- 4,5
E 6	- 3,0
E 11	- 2,6
E 17	- 2,2
E 16	- 1,9
E 8	- 1,3
E 10	- 1,2
E 20	- 0,6
E 19	- 0,5
E 5	- 0,1
E 21	- 0,1
E 1	+ 0,2
E 7	+ 1,0

Da sich die 18 Probanden mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode aufgrund der Höhe ihres präpartalen intravasalen IgM-Abfalles in drei Gruppen unterteilen ließen, konnten diese vergleichend betrachtet werden. Die Tiere mit einer Reduktion der intravasalen IgM-Titer > 4 mg/ml (E 9, E 12; E 13, E 14, E 15, E 18) waren zum zweiten oder vierten Mal gravid, jene sechs Rinder mit einer Abnahme zwischen 1,0 mg/ml und 4,0 mg/ml (E 6, E 8, E 10, E 11, E 16, E 17) im Zustand der ersten bis dritten Geburt und die Kühe mit einer Verminderung von weniger als 1,0 mg/ml (E 1, E 5, E 7, E 19, E 20, E 21) gebaren zum zweiten bis fünften Mal.

Die Milchrinder mit der höchsten Erniedrigung der intravasalen IgM-Konzentrationen von der vierten Woche a.p. bis zur Geburt (E 9, E 12; E 13, E 14, E 15, E 18) wiesen vom Ende der



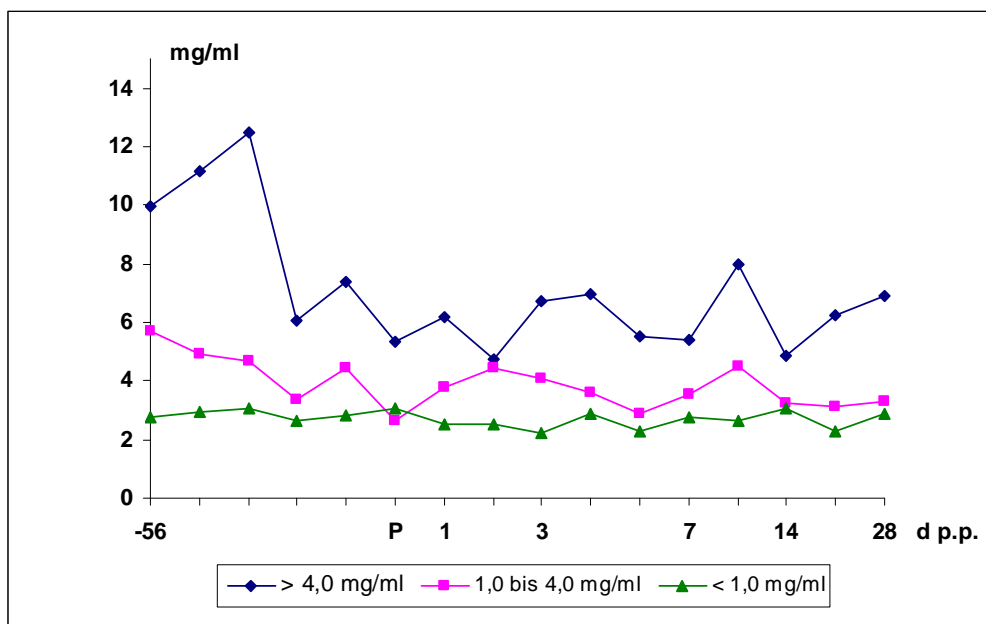
Laktationsperiode (achte Woche a.p.) bis zur vierten Woche eine Zunahme des IgM's im Blut auf (von  $10,0 \pm 3,6$  mg/ml auf  $12,5 \pm 5,4$  mg/ml). Erst danach kam es zum rapiden Abfall der durchschnittlichen IgM-Werte auf  $5,4 \pm 2,6$  mg/ml bis zum Geburtsgeschehen. Die Gesamtreduktion der intravasalen IgM-Titer im Intervall vom achten Monat der Gravidität bis zum Partus bezifferte sich auf 56,8 %. Im postpartalen Abschnitt zeigten die intravasalen IgM-Gehalte einen undulierenden Verlauf im Bereich zwischen 4,8 mg/ml und 8,0 mg/ml, der keine statistische Signifikanz aufwies (*Grafik 21*).

Bei den Rindern mit mittelgradiger Verringerung der IgM-Level im Blut (E 6, E 8, E 10, E 11, E 16, E 17) konnte schon ab der Trockenstellung eine Reduktion von  $5,7 \pm 3,9$  mg/ml auf  $2,6 \pm 1,0$  mg/ml bis zum Partus beobachtet werden. Nach dem Geburtsgeschehen schwankten die durchschnittlichen IgM-Konzentrationen bis zur vierten Woche p.p. in einem relativ engen Bereich zwischen 2,9 mg/ml und 4,5 mg/ml (*Grafik 21*).

In der dritten Gruppe mit den Probanden, welche die geringsten präpartalen Reduktionen des IgM's im Blut ( $< 1,0$  mg/ml) aufwiesen, verharrten die Durchschnittskonzentrationen an den einzelnen Messpunkten im gesamten Untersuchungszeitraum, vom Ende des siebten Monates der Gravidität bis zur vierten Woche p.p., auf dem niedrigen Niveau zwischen 2,2 mg/ml und 3,1 mg/ml (*Grafik 21*).

Bemerkenswert war, dass die zwei Tiere (E 9, E 14) mit dem höchsten präpartalen IgM-Abfall eine der niedrigsten IgM-Konzentrationen im Kolostrum aufwiesen (E 9: 1,6 mg/ml Kolostrum; E 14: 6,5 mg/ml Kolostrum).

Paradoxe Weise konnte bei den zwei Tieren mit dem geringsten präpartalen IgM-Abfall eine sehr hohe IgM-Konzentration im Kolostrum ermittelt werden (E 19: 14,0 mg/ml Kolostrum; E 21: 15,2 mg/ml Kolostrum).



Grafik 21: Verlauf der intravasalen IgM-Konzentrationen bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode (n = 18) von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p. in Abhängigkeit von der Höhe des IgM-Abfalles im Intervall zwischen der achten Woche a.p. und dem Partus (siehe Tabelle 1 Anhang)

Bei vergleichender Betrachtung der absoluten intravasalen IgM-Konzentrationen im siebten Monat der Gravidität mit der Parität der Probanden zeigte sich, dass der durchschnittliche IgM-Gehalt bei Milchrindern mit der dritten Gravidität, im Gegensatz zu denen des IgG, mit  $8,1 \pm 4,9$  mg/ml sichtbar über dem arithmetischen Mittelwert der Tiere lag, die erstmals oder zum zweiten Mal gravid waren ( $4,7 \pm 3,4$  mg/ml). Allerdings konnte keine statistische Signifikanz ermittelt werden ( $p = > 0,05$ ; Tab 19).

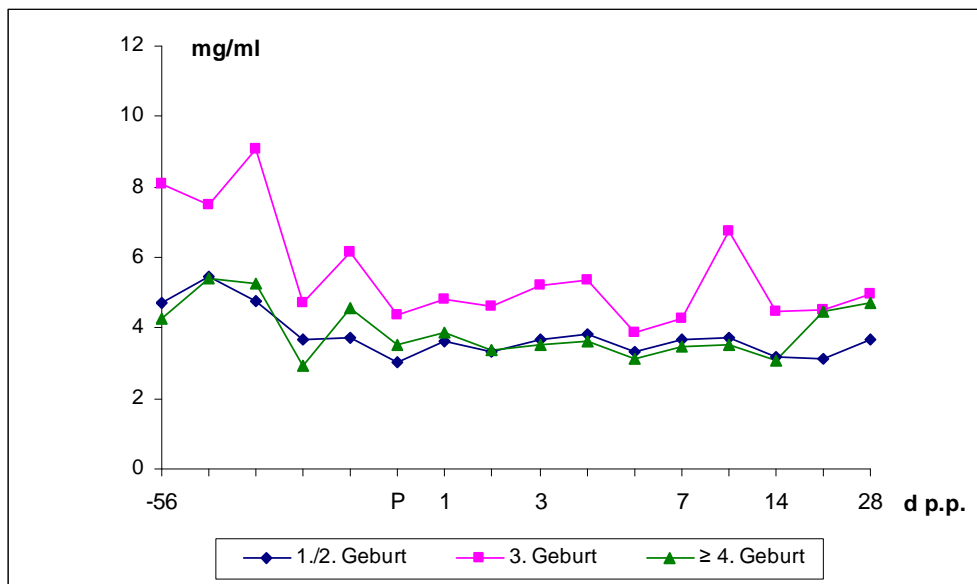
Ähnlich große Differenzen waren bei den durchschnittlichen präpartalen Reduktionen (von der achten Woche a.p. bis zum Partus) der IgM-Titer im Blut zu beobachten (Grafik 22), entgegen denen des IgG, die annähernd gleich waren. Während die Rinder mit der ersten und zweiten Gravidität eine durchschnittliche antepartale Verminderung der intravasalen IgM-Konzentrationen von nur 1,7 mg/ml (36,2 %) aufwiesen, hatten die Kühe mit der dritten Gravidität eine durchschnittliche Abnahme von 3,7 mg/ml (45,7 %). Dies entsprach zwar einer Differenz von 217,6 % (2,0 mg/ml) gemessen vom arithmetischen Mittelwert der  $\leq 2$ . Parität (Tab 19). Jedoch sind diese Unterschiede nicht statistisch zu sichern gewesen ( $p > 0,05$ ).

Jene Tiere mit einer Geburtenziffer  $\geq 4$  hatten dagegen eine niedrigere Ausgangskonzentration an IgM (4,3 mg/ml) in der achten Woche ante partum. Auch der präpartale Abfall der intravasalen IgM-Gehalte (vom siebten Monat der Gravidität bis zum Partus) war mit 0,8 mg/ml respektive 18,6 % deutlich niedriger als bei denen mit der zweiten und dritten Parität (*Grafik 22*). Allerdings muss auch hier bedacht werden, dass es sich nur um zwei Kühe in dieser Untersuchungsgruppe handelte (*Tab. 19*).

Tabelle 19: Durchschnittlicher Gehalt (vierte Woche a.p.) und präpartaler Abfall (von der vierten Woche a.p. bis zum Partus) der intravasalen IgM-Konzentrationen in Abhängigkeit von der Geburtenziffer

Parität	n	durchschnittliche IgM-Konzentration in der achten Woche a.p. (mg/ml)	absoluter präpartaler IgM- Abfall (mg/ml)	relativer präpartaler IgM- Abfall (%)
$\leq 2$	8	4,7	1,7	36,2
3	8	8,1	3,7	45,7
$\geq 4$	2	4,3	0,8	18,6

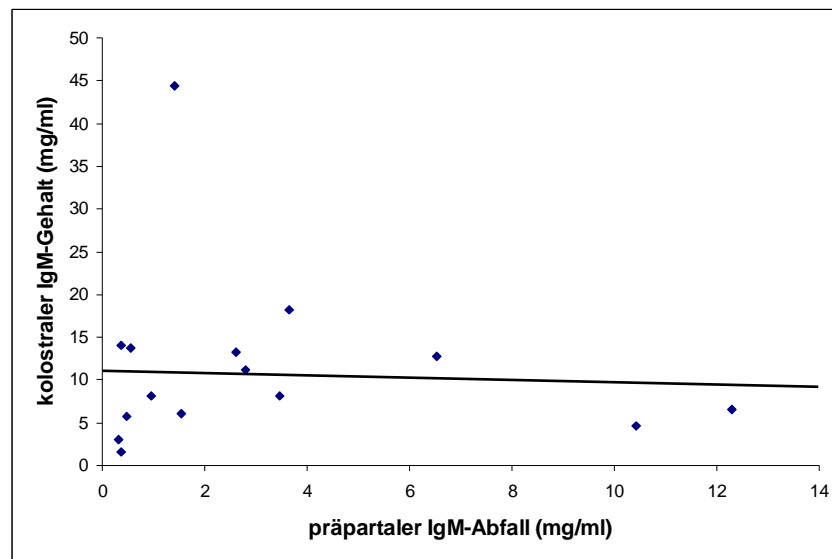
Im postpartalen Verlauf bis zur vierten Woche blieben die durchschnittlichen intravasalen IgM-Konzentrationen der Tiere, die zum ersten oder zweiten Mal gravid waren, relativ konstant auf dem erniedrigten Niveau zwischen 3,0 und 3,7 mg/ml. Bei den Tieren, die zum dritten Mal gebaren, verharrten die Durchschnittskonzentrationen des IgM bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes (vierte Woche p.p.) ebenfalls auf einem reduzierten Level zwischen 4,6 und 5,4 mg/ml, ausgehend von den Werten in der achten Woche ante partum. Allerdings lagen die Gehalte deutlich über den Rindern mit ersten und zweiten Gravidität. Lediglich am zehnten Tag nach dem Partus kommt es zu einer einmaligen Konzentrationserhöhung auf  $6,8 \pm 5,9$  mg/ml (*Grafik 22*).



Grafik 22: Verlauf der durchschnittlichen intravasalen IgM-Konzentration bei den Tieren mit der ersten und zweiten Geburt (n = 8) im Vergleich zu denen mit der dritten Geburt (n = 8) und  $\geq 4$ . Geburt (n = 2)

Im Weiteren war zu überprüfen, ob eine Korrelation zwischen der Konzentration an IgM im Kolostrum und der Umkompartimentierung an intravasalen IgM innerhalb der Trockenstehperiode in das Eutergewebe besteht. Allerdings konnte, im Gegensatz zu den Verschiebungen des Immunglobulin G, beim IgM, trotz der signifikanten Konzentrationsabnahme in der präpartalen Periode, keine signifikante Korrelation zum kolostralen Immunglobulingehalt eruiert werden ( $p = 0,86$ ). Große Abnahmen der intravasalen IgM-Konzentrationen in der Trockenstehphase standen nicht in Zusammenhang mit erhöhten kolostralen IgM-Gehalten (*Grafik 23*).

Die Regressionsgerade hat die Formel  $Y = -0,12x + 11,17$  mit einem Korrelationskoeffizient von  $r = -0,05$  (*Grafik 23*).



Grafik 23: Korrelation zwischen dem intravasalen IgM-Abfall in der Trockenstehperiode und dem Gehalt im Kolostrum von 18 Milchkühen mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode im Alter von  $4,0 \pm 1,4$  Jahren

Während der Proband E 14 mit dem höchsten intravasalen Abfall der IgM-Konzentration im Intervall von der achten Woche a.p. bis zum Partus einen kolostralen IgM-Gehalt von nur 6,5 mg/ml hatte, wies das Rind E 7, welches sogar eine Zunahme der IgM-Gehalte von 2,0 mg/ml in der Trockenstehperiode zeigte, eine IgM-Konzentration von 15,2 mg/ml Kolostrum auf (Tab. 20).

Tabelle 20: Präpartaler Abfall (von der vierten Woche a.p. bis zum Partus) der intravasalen IgM-Konzentrationen im Vergleich zu den kolostralen IgG-Gehalten bei Milchkühen (n = 18) im Alter von  $4,0 \pm 1,4$  Jahren (Angaben in mg/ml)

<b>Proband</b>	<b>intravasale IgM- Konzentration acht Wochen a.p.</b>	<b>präpartale intravasale IgM- Veränderung (bis i.p.)</b>	<b>intravasale IgM- Konzentration i.p.</b>	<b>kolostrale IgM- Konzentration</b>
E 14	14,2	- 12,3	1,9	6,5
E 11	12,9	- 10,4	2,5	4,6
E 13	12,1	- 6,5	5,6	12,8
E 12	11,9	- 3,7	8,2	18,2
E 18	4,2	- 3,5	0,7	8,2
E 6	6,3	- 2,8	3,5	11,2
E 8	5,7	- 2,6	3,1	13,2
E 17	3,0	- 1,5	1,5	6,0
E 15	7,8	- 1,4	6,4	44,4
E 5	3,8	- 1,0	2,9	8,1
E 10	4,2	- 0,6	3,7	13,8
E 16	2,0	- 0,5	1,5	5,8
E 9	9,8	- 0,4	9,4	1,6
E 19	1,9	- 0,4	1,5	14,0
E 20	1,9	- 0,3	1,5	3,0
E 21	2,0	+ 0,1	2,1	6,7
E 1	2,7	+ 1,4	4,1	2,5
E 7	4,4	+ 2,0	6,3	15,2

Eine weitere Möglichkeit der Auswertung bietet der Vergleich zwischen den intrapartalen kolostralen IgM-Konzentrationen zu den jeweiligen prozentualen präpartalen Abfällen der intravasalen IgM-Gehalte (Tab. 21). Auch dabei war ersichtlich, dass die prozentuale Reduktion der IgM-Titer vom siebten Monat der Gravidität bis zur Expulsion der Frucht, in Übereinstimmung zu denen des IgG, nicht in Zusammenhang mit dem kolostralen Gehalt an Immunglobulin M zu stehen scheint. Das Tier E 11 hatte den größten intravasalen Abfall an IgM von 88,7 % in der Trockenstehperiode. Gleichzeitig konnte mit 4,6 mg/ml nur eine der geringsten IgM-Konzentrationen im Erstgemelk bestimmt werden. Dem entgegen steht die

Kuh E 15, welche bei einer präpartalen Abnahme der intravasalen IgM-Titer von lediglich 18,1 % den höchsten IgM-Gehalt im Kolostrum (44,4 mg/ml) aufwies.

Weiterhin zeigte das Rind E 7 sogar eine Zunahme der intravasalen IgM-Konzentrationen von der achten Woche vor der Geburt bis zur partalen Phase. Trotzdem enthielt die Biestmilch 15,2 mg/ml IgM.

Dies zeigt, dass der festgestellte prozentuale Abfall der IgM-Titer im Blut in der Trockenstehphase nicht mit der kolostralen IgM-Konzentration korreliert ist (*Tab. 21*).

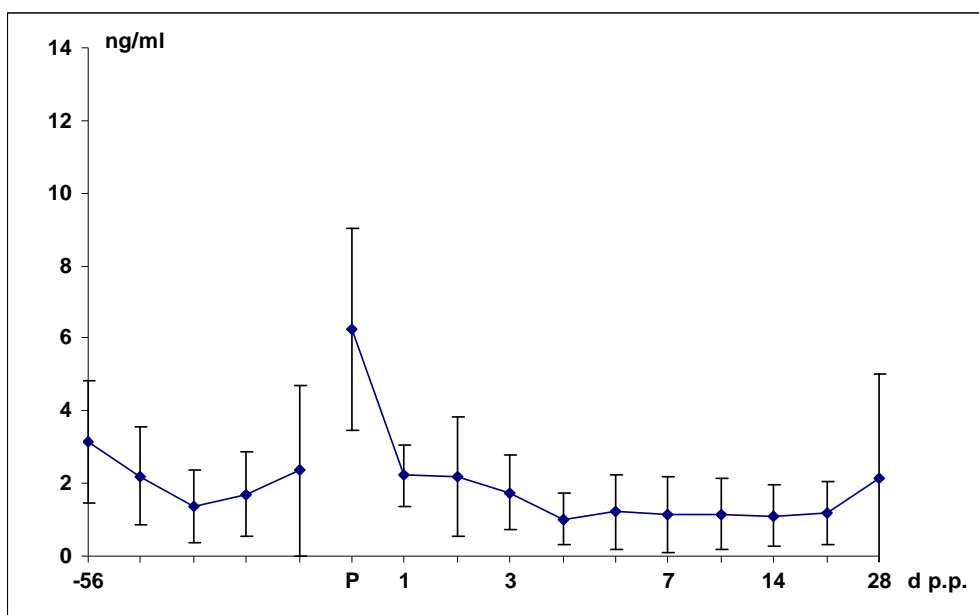
Tabelle 21: Prozentualer präpartaler Abfall (von der achten Woche a.p. bis zum Partus) der intravasalen IgM-Konzentration im Vergleich zum kolostralen IgG-Gehalt bei Milchkühen (n = 18) im Alter von  $4,0 \pm 1,4$  Jahren

<b>Proband</b>	<b>präpartale intravasale IgM-Veränderung (%)</b>	<b>kolostrale IgM-Konzentration (mg/ml)</b>
E 11	- 88,7	4,6
E 14	- 86,7	6,5
E 18	- 83,0	8,2
E 13	- 54,0	12,8
E 17	- 50,7	6,0
E 8	- 45,8	13,2
E 6	- 44,7	11,2
E 12	- 30,8	18,2
E 5	- 25,3	8,1
E 16	- 24,6	5,8
E 19	- 19,9	14,0
E 15	- 18,1	44,4
E 20	- 17,3	3,0
E 9	- 3,9	1,6
E 10	- 1,8	13,8
E 21	+ 5,6	6,7
E 7	+ 45,5	15,2
E 1	+ 54,1	2,5

#### 4.4 Intravasale Kortisolkonzentrationen bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p.

In der Phase der Trockenstellung, von der achten Woche a.p. bis einen Tag vor der Geburt, blieben die Kortisolkonzentrationen von den in die Untersuchung einbezogenen Milchrindern relativ konstant auf einem Level zwischen 1,5 und 3,0 ng/ml. Es war lediglich ein geringgradiger tendenzieller Abfall des Kortisols von  $3,2 \pm 1,7$  ng/ml im siebten Monat der Gravidität auf  $1,4 \pm 1,0$  in der vierten Woche a.p. zu beobachten, der von einem leichten Anstieg ( $2,4 \pm 2,4$  ng/ml 1 d a.p.) gefolgt war. Allerdings unterschritten diese antepartalen Konzentrationsänderungen das Signifikanzniveau nicht ( $p > 0,05$ ) (*Grafik 24*).

Erst intra partum kam es zu einem sprunghaften Anstieg des Kortisols im Plasma um 264,0 % auf  $6,2 \pm 2,8$  ng/ml ( $p < 0,001$ ). Unmittelbar post partum fielen diese abrupt ab. Schon 24 Stunden p.p. erreichte die durchschnittliche Kortisolkonzentration mit  $2,2 \pm 0,9$  ng/ml wieder den Bereich, den sie auch antepartal hatte ( $p < 0,001$ ). Dies entsprach einer Reduktion um 64,4 % bis einen Tag nach der Geburt, ausgehend von der Konzentration intra partum. In der Folge bewegte sich die intravasale Kortisolkonzentration im postpartalen Abschnitt konstant auf einem Niveau zwischen 1,0 und 2,0 ng/ml ( $p > 0,05$ ) (*Grafik 24*).

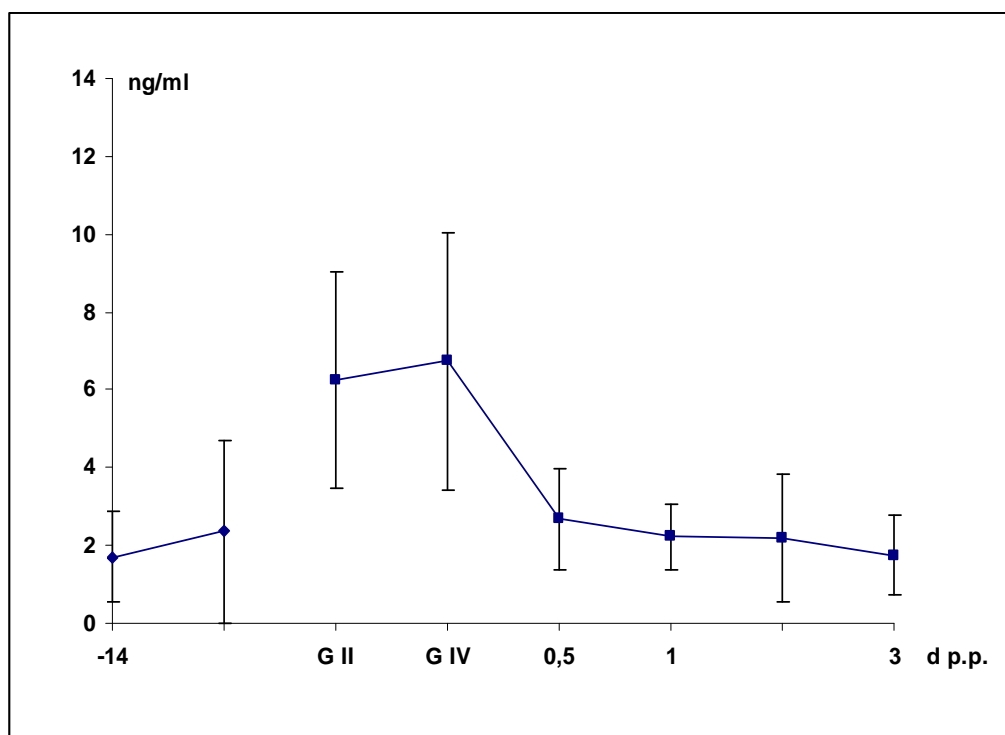


Grafik 24: Verlauf der Kortisolkonzentration im Blutserum bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode (n = 12) von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p. (siehe Tabelle 1 Anhang)



Gliedert man das enge peripartale Intervall in ein kleineres zeitliches Raster, ist ersichtlich, dass gerade in dieser kleinen Zeitspanne die Streuung der Einzelwerte an den jeweiligen Messpunkten relativ hoch ist. Allerdings war die Normalverteilung durch diese hohe Standardabweichung nicht beeinträchtigt.

Wie aus Grafik 25 ersichtlich, wurde das Maximum der Kortisolkonzentration mit  $6,7 \pm 3,3$  ng/ml nicht zu Beginn, sondern am Ende des Stadiums II der Geburt erreicht ( $p < 0,001$ ). Erst unmittelbar nach Expulsion der Frucht fiel der Kortisollevel innerhalb von zwölf Stunden abrupt auf  $2,7 \pm 1,3$  ng/ml ab ( $p < 0,001$ ). Ab dem ersten Tag p.p. verharrten die Kortisolwerte bis zur vierten Woche, dem Ende des Untersuchungszeitraumes, auf einem Basalniveau zwischen 1,0 und 2,0 ng/ml ( $p > 0,05$ ) (Grafik 25).



Grafik 25: Verlauf der Kortisolkonzentrationen im Blutserum bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode ( $n = 12$ ) von der zweiten Woche a.p. bis zum dritten Tag p.p. (siehe Tabelle 1 Anhang)

G II = Beginn der Austreibungsphase

G IV = Ende der Austreibungsphase

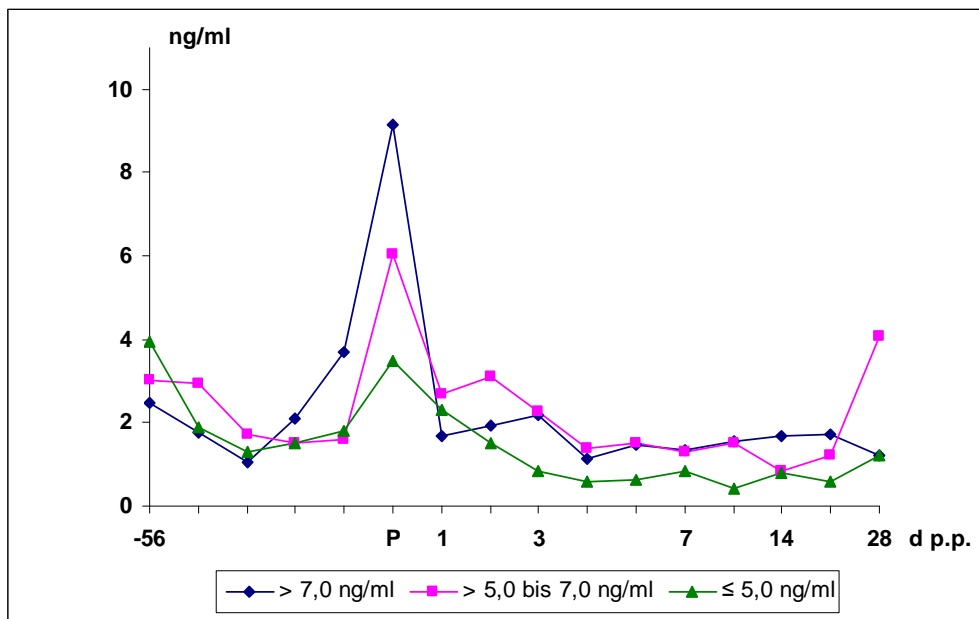
Unter Heranziehung aller Einzelwerte zeigte sich, dass es insbesondere unter der Geburt erhebliche individuelle Schwankungen der intravasalen Kortisolkonzentrationen gab. Dies war Anlass, die Probanden in Abhängigkeit ihrer intrapartalen (G II) Kortisollevel in drei Gruppen zu unterteilen.

Die vier Tiere mit einem intrapartalen Gehalt  $> 7,0$  ng/ml (E 1, E 5, E 13, E14) waren im Zustand der ersten bis dritten Geburt, jene vier Kühe mit einem Gehalt von mehr als 5,0 ng/ml bis 7,0 ng/ml (E 6, E 9, E 11, E 12) gebaren zum zweiten oder dritten Mal. Die vier Rinder mit einem Wert  $\leq 5,0$  ng/ml sub partu (E 7, E 8, E 10, E 15) hatten die zweite bis fünfte Geburt (*Grafik 26*).

Die Kurvenverläufe der durchschnittlichen Kortisolkonzentrationen waren, wie aus der Grafik 26 abzuleiten ist, an den einzelnen Messpunkten nahezu deckungsgleich. Lediglich die Erhöhungen der intravasalen Gehalte sub partu wiesen deutliche Differenzen auf.

In allen drei Gruppen lagen die Kortisoltiter am Ende der Laktationsperiode zwischen 2,5 ng/ml und 4,0 ng/ml. Bis zu einem Tag vor der Geburt konnte zunächst eine geringgradige Abnahme gefolgt von einer geringgradigen Zunahme beobachtet werden. Erst unter dem Geburtsgeschehen stiegen die intravasalen Werte des Kortisols sprunghaft an. In der Probandengruppe mit den höchsten intrapartalen (G II) Kortisolevel war ein arithmetischer Mittelwert von  $9,2 \pm 2,2$  ng/ml, in der mittleren Gruppe eine Durchschnittskonzentration von  $6,1 \pm 0,4$  ng/ml und in dem Kollektiv mit den niedrigsten Gehalten ein Maximum von nur  $3,5 \pm 1,3$  ng/ml i.p. zu verzeichnen (*Grafik 26*).

Unmittelbar post partum verringerten sich die Kortisolwerte in allen drei Gruppen rapide auf ein Level zwischen 1,7 ng/ml und 2,7 ng/ml. Bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes verharrten die Kortisoltiter nahezu kongruent auf dem niedrigen Niveau zwischen 0,4 ng/ml und 2,2 ng/ml (*Grafik 26*).



Grafik 26: Verlauf der intravasalen Kortisolkonzentrationen bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode (n = 12) von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p. in Abhängigkeit von der Höhe des intrapartalen Wertes (siehe Tabelle 1 Anhang)

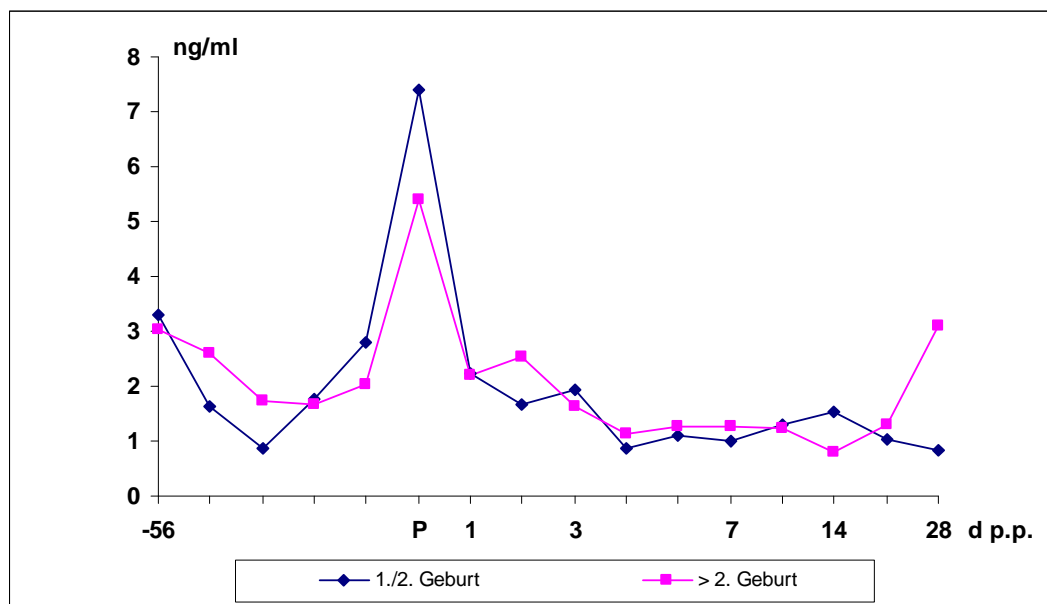
Bei vergleichender Betrachtung der absoluten durchschnittlichen intravasalen Kortisolkonzentrationen im siebten Monat der Gravidität in Relation zur Parität zeigte sich, dass die Gehalte bei den Tieren, die zum ersten oder zweiten Mal gravid waren ( $3,3 \pm 1,6$  ng/ml) nahezu deckungsgleich mit denen der  $\geq 3$ . Gravidität ( $3,1 \pm 1,7$  ng/ml) waren (Tab. 22). Weiterhin differieren die intrapartalen Kortisolgehalte im Plasma nur geringgradig. Während Rinder mit der  $\leq 2$ . Parität eine durchschnittliche Konzentration von  $7,4 \pm 3,7$  ng/ml hatten, konnte bei denen mit der  $\geq 3$ . Geburt ein durchschnittlicher Gehalt von  $5,4 \pm 3,7$  ng/ml nachgewiesen werden ( $p > 0,05$ ).

In gleicher Weise unterschieden sich die präpartalen Zunahmen der Kortisollevel von einem Tag a.p. bis zum Partus bei Milchrindern mit der ersten und zweiten Geburt ( $263,7$  %) sowie der  $> 2$ . Parität ( $264,2$  %) fast nicht (Tab. 22). Daher war eine statistische Signifikanz nicht nachweisbar ( $p > 0,05$ ) (Grafik 27).

Tabelle 22: Durchschnittlicher Gehalt in der achten Woche a.p. und intrapartale

Konzentration des Kortisols im Blutserum in Abhängigkeit von der Geburtenziffer, sowie prozentualer Anstieg von einem Tag a.p. bis zum Beginn des Stadiums II der Geburt (Austreibungsphase) (Angaben in ng/ml)

Parität	n	durchschnittliche Kortisol-konzentration in der achten Woche a.p.	durchschnittliche Kortisol-konzentration einen Tag a.p.	durchschnittliche Kortisol-konzentration intra partum	durchschnittlicher präpartaler Kortisanstieg (%)
$\leq 2$	5	$3,3 \pm 1,6$	$2,8 \pm 3,6$	$7,4 \pm 3,7$	263,7
$> 2$	7	$3,1 \pm 1,7$	$2,0 \pm 1,2$	$5,4 \pm 3,7$	264,2



Grafik 27: Verlauf der durchschnittlichen intravasalen Kortisolkonzentration bei den Tieren mit der ersten und zweiten Geburt (n = 5) im Vergleich zu denen mit mehr als der zweiten Geburt (n = 7)

#### **4.5 Quantifizierung der Schilddrüsenhormone ( $T_3$ , $fT_3$ , $T_4$ , $fT_4$ ) bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p.**

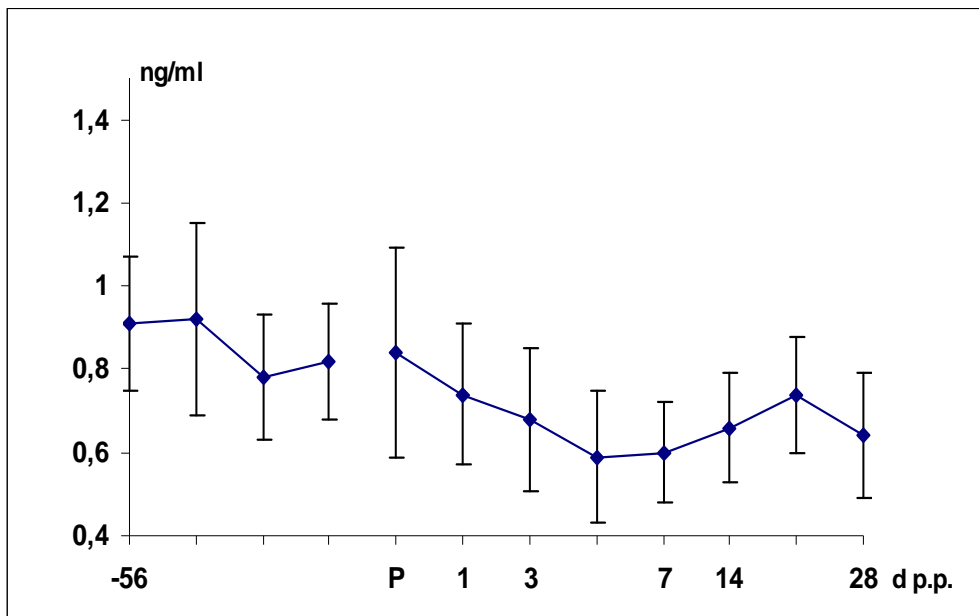
##### **4.5.1 Verlauf der $T_3$ -Konzentration**

Im weiteren Verlauf wurden die  $T_3$ -Konzentrationen von zehn Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode im Alter von  $3,9 \pm 1,0$  Jahren bestimmt.

In der Zeit zwischen dem Ende der Laktationsperiode und dem Partus kam es zu keiner signifikanten Änderung der durchschnittlichen intravasalen  $T_3$ -Gehalte ( $p = 0,16$ ). Die Werte schwankten in einem Bereich von 0,78 ng/ml und 0,91 ng/ml (*Grafik 28*).

Erst in der frühen postpartalen Periode, von der Expulsion der Frucht bis zum fünften Tag p.p., kam es zu einem kontinuierlichen signifikanten Abfall der  $T_3$ -Werte von  $0,84 \pm 0,25$  ng/ml auf  $0,59 \pm 0,16$  ng/ml ( $p < 0,05$ ). Ausgehend von der intrapartalen Konzentration beträgt diese Reduktion 29,8 %. Im weiteren Verlauf war eine erneute Erhöhung der  $T_3$ -Titer mit einem Maximum von  $0,74 \pm 0,14$  ng/ml in der dritten Woche p.p. zu verzeichnen gewesen, welche statistisch zu sichern gewesen war ( $p < 0,05$ ). Bis zur vierten Woche p.p. reduzierten sich die durchschnittlichen  $T_3$ -Gehalte nochmals auf  $0,64 \pm 0,15$  ng/ml (*Grafik 28*).

Bemerkenswert ist, dass das  $T_3$ -Level in der gesamten postpartalen Periode deutlich unter dem präpartalen Niveau lag. Auch am 28. Tag p.p., dem Ende des Studienzeitraumes, verharrten die  $T_3$ -Titer mit  $0,64 \pm 0,15$  ng/ml immer noch deutlich unter denen, die vor dem Partus gemessen wurden.



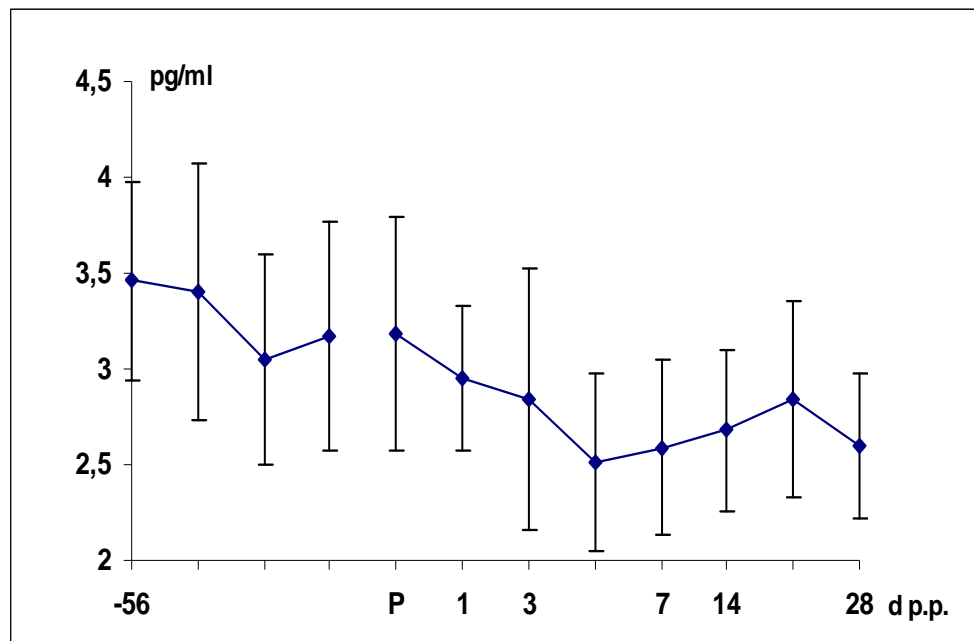
Grafik 28: Verlauf der T<sub>3</sub>-Konzentration bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode (n = 10) von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p. (siehe Tabelle 2 Anhang)

#### 4.5.2 Verlauf der fT<sub>3</sub>-Konzentration

Die Entwicklung des durchschnittlichen fT<sub>3</sub>-Level zeigte einen ähnlichen Graphen wie der des T<sub>3</sub>. Von der achten Woche a.p. bis zur Geburt kam es zu einem tendenziellen Abfall von  $3,5 \pm 0,5$  pg/ml auf  $3,2 \pm 0,6$  pg/ml (*Grafik 29*). In der Gesamtbetrachtung des antepartalen Verlaufes der Kurve konnte trotz einer sichtbaren Verminderung keine signifikante Abnahme verifiziert werden ( $p = 0,14$ ).

Unmittelbar post partum fielen die durchschnittlichen intravasalen fT<sub>3</sub>-Werte, analog zum T<sub>3</sub>, bis zum fünften Tag p.p. rapide auf  $2,5 \pm 0,5$  pg/ml ab. Setzt man den Ausgangswert i.p. gleich 100 % bezifferte sich diese Abnahme auf 21,1 %. Diese Abnahme konnte auch hier statistisch untermauert werden ( $p < 0,05$ ). In der späteren postpartalen Periode erhöhten sich die fT<sub>3</sub>-Level bis zur dritten Woche p.p. kontinuierlich auf  $2,8 \pm 0,5$  pg/ml ( $p < 0,05$ ). Damit war die höchste durchschnittliche Konzentration innerhalb der postpartalen Periode erreicht. (*Grafik 29*).

In Analogie zum Verlauf der arithmetischen Mittelwerte der T<sub>3</sub>-Gehalte zeigte sich auch beim fT<sub>3</sub>, dass die Durchschnittskonzentration vier Wochen post partum noch auf niedrigem Niveau verharret, im Vergleich zu den Werten die antepartal gemessen werden konnten.



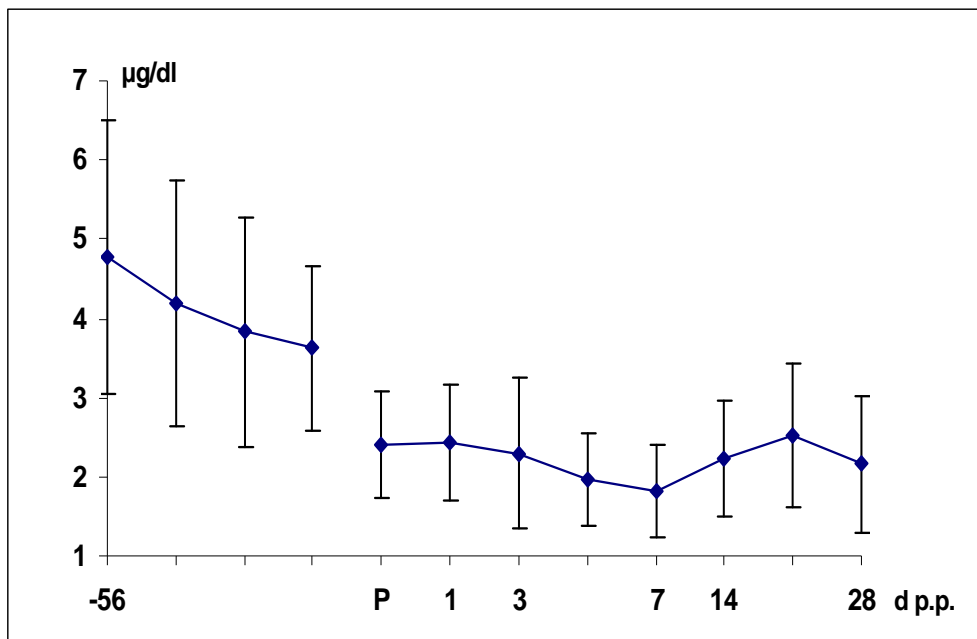
Grafik 29: Verlauf der fT<sub>3</sub>-Konzentration bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode (n = 10) von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p. (siehe Tabelle 2 Anhang)

#### 4.5.3 Verlauf der T<sub>4</sub>-Konzentration

Im Weiteren war sichtbar, dass es, im Gegensatz zum T<sub>3</sub> und fT<sub>3</sub>, beim Verlauf der durchschnittlichen T<sub>4</sub>-Konzentrationen zu einem 50 %igen Abfall vom Ende des siebten Monates der Gravidität an bis zur Geburt von  $4,8 \pm 1,7 \mu\text{g/dl}$  auf  $2,4 \pm 0,7 \mu\text{g/dl}$  kam ( $p < 0,001$ ) (*Grafik 30*).

Die Reduktion der T<sub>4</sub>-Titer setzte sich in der frühen postpartalen Periode weiter fort, allerdings wesentlich protrahierter. Bis zum siebten Tag p.p. reduzierten sich die intravasalen T<sub>4</sub>-Gehalte weiter auf  $1,8 \pm 0,6 \mu\text{g/dl}$ . Danach war ein geringgradiger Anstieg des T<sub>4</sub> bis zum 21. Tag p.p. auf  $2,5 \pm 0,9 \mu\text{g/dl}$  zu verzeichnen (*Grafik 30*).

Jedoch waren dies nur sehr kleine Schwankungen der durchschnittlichen T<sub>4</sub>-Konzentrationen, welche sich zwischen  $2,2 \mu\text{g/dl}$  und  $2,4 \mu\text{g/dl}$  bewegten. Insgesamt verharrten die T<sub>4</sub>-Konzentration p.p. relativ konstant auf diesem erniedrigten Niveau und wiesen keine signifikanten Änderungen auf ( $p < 0,05$ ).



Grafik 30: Verlauf der T<sub>4</sub>-Konzentration bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode (n = 10) von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p. (siehe Tabelle 2 Anhang)

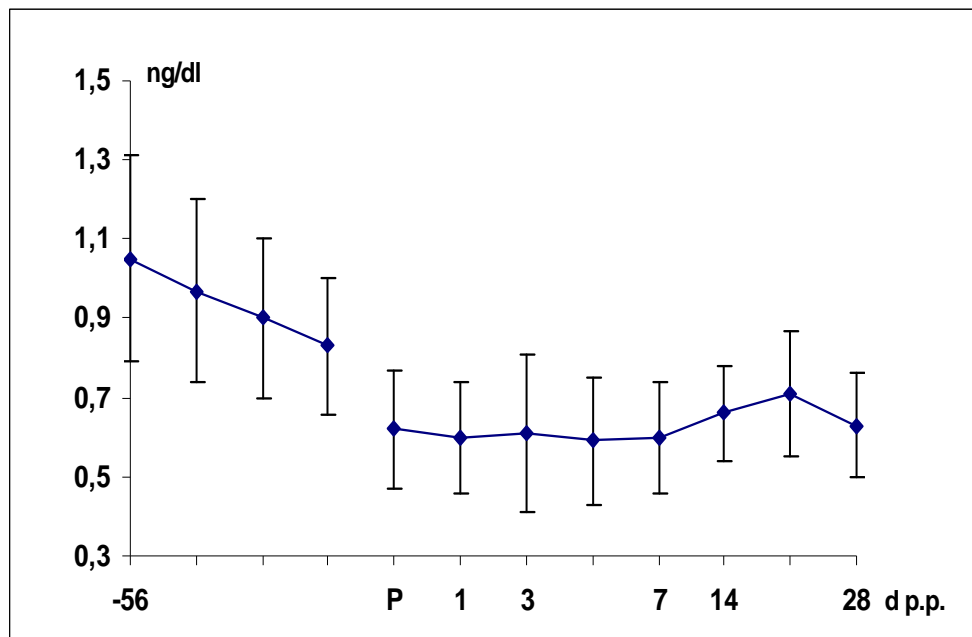
#### 4.5.4 Verlauf der fT<sub>4</sub>-Konzentration

In gleicher Weise, wie die durchschnittliche T<sub>4</sub>-Konzentration präpartal abfiel, wies auch die des fT<sub>4</sub> im Zeitraum von der achten Woche a.p. bis zum Geburtsgeschehen eine rapide, statistisch hoch signifikante Abnahme auf ( $1,05 \pm 0,26$  ng/dl auf  $0,62 \pm 0,15$  ng/dl;  $p < 0,001$ ) (Grafik 31). Das absolute Minimum wird mit  $0,60 \pm 0,14$  ng/dl 24 Stunden nach der Austreibungsphase erreicht (- 42,9 %).

In der frühen postpartalen Phase verharrten die fT<sub>4</sub>-Level nahezu konstant bei Werten um 0,6 ng/dl. Erst ab dem siebten Tag p.p. war eine geringgradige tendenzielle Zunahme bis zur dritten Woche p.p. zu verzeichnen ( $0,60 \pm 0,14$  ng/dl auf  $0,71 \pm 0,16$  ng/dl). Bis zum Ende der Studienzeit, der vierten Woche p.p., reduzierten sich die intravasalen fT<sub>4</sub>-Gehalte allerdings erneut auf  $0,63 \pm 0,13$  ng/dl.

Insgesamt stagnierten die intravasalen fT<sub>4</sub>-Werte jedoch in der gesamten postpartalen Periode auf dem erniedrigten Niveau zwischen 0,59 ng/dl und 0,71 ng/dl (Grafik 31). Es kam, in Analogie zum postpartalen Verlauf des T<sub>4</sub>, lediglich zu kleinen Schwankungen der arithmetischen fT<sub>4</sub>-Werte, welche das Signifikanzniveau nicht unterschritten ( $p > 0,05$ ).





Grafik 31: Verlauf der fT<sub>4</sub>-Konzentration bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode (n = 10) von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p. (siehe Tabelle 2 Anhang)

#### 4.6 Intravasale Leukozyten- und Lymphozytenkonzentration bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p.

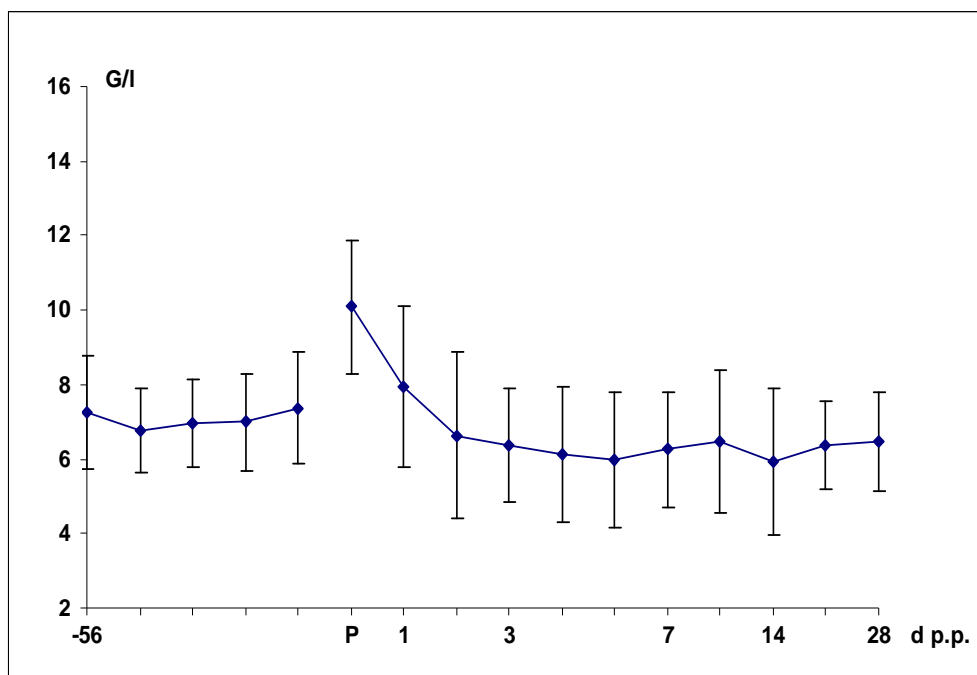
Weiterhin war es von Interesse, die Verschiebungen der durchschnittlichen intravasalen Leukozytenkonzentrationen bei Milchrindern mit komplikationsloser Trächtigkeit, Geburt und postpartaler Periode zu untersuchen. Dabei konnte ermittelt werden, dass sich die Leukozytenghalte in der präpartalen Phase (achte Woche a.p. bis sub partu) in einem sehr engen Konzentrationsbereich relativ konstant bei Werten zwischen 6,8 G/l und 7,4 G/l bewegten. Nach einer kurzfristigen Absenkung der durchschnittlichen Titer von  $7,3 \pm 1,5$  G/l im siebten Monat der Gravidität auf  $6,8 \pm 1,1$  G/l in der sechsten Woche a.p., war eine Tendenz zur leichten Zunahme bis einen Tag vor der Geburt zu erkennen ( $7,4 \pm 1,5$  G/l).

In gleicher Weise wie bei dem Verlauf der Kortisolkonzentration kam es erst unter der Geburt zu einer sprunghaften Erhöhung der intravasalen Leukozytenwerte auf  $10,1 \pm 1,8$  G/l

(Grafik 32). Dies entsprach einer Erhöhung um 37,0 %, gemessen von der Konzentration einen Tag a.p., die statistisch zu sichern gewesen war ( $p < 0,001$ ).

Nach beendeter Geburt konnte eine rapide, signifikante Abnahme der durchschnittlichen intravasalen Gehalte an Leukozyten bis zum zweiten Tag p.p. verzeichnet werden, wo bereits mit  $6,6 \pm 2,2$  G/l wieder die Leukozytenlevel erreicht wurden, die denen ante partum entsprachen ( $p < 0,001$ ). Ausgehend vom intrapartalen Leukozytenwert beläuft sich diese Reduktion auf 34,3 %.

Im weiteren postpartalen Verlauf bis zur vierten Woche, dem Ende des Untersuchungszeitraumes, verharrten die durchschnittlichen Leukozytenkonzentrationen wiederum nahezu konstant in dem engen Konzentrationsbereich zwischen 5,9 G/l und 6,5 G/l (Grafik 32). Es konnten lediglich kleine Schwankungen der arithmetischen Leukozytenwerte beobachtet werden, welche statistisch nicht signifikant waren ( $p > 0,05$ ).

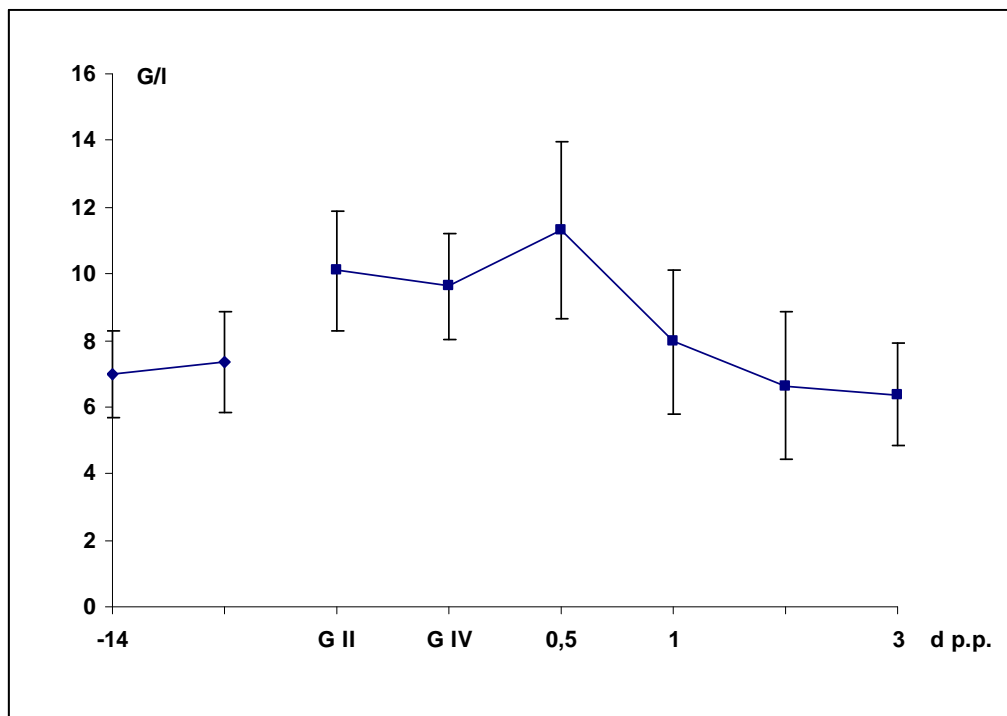


Grafik 32: Verlauf der Leukozytenkonzentration im Blut bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode ( $n = 18$ ) von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p. (siehe Tabelle 1 Anhang)

In Anlehnung an die Entwicklung der intravasalen Kortisolgehalte wurde das Augenmerk in gleicher Weise auf das enge peripartale Intervall gerichtet. Dabei war ersichtlich, dass die

Leukozytenwerte nicht unmittelbar mit Beginn der Nachgeburtsphase (Stadium III der Geburt) rapide absanken, sondern sogar nochmals anstiegen, ähnlich der Entwicklung des Kortisols. Das absolute Maximum der Konzentration an Leukozyten wurde erst zwölf Stunden nach dem Ende der Austreibungsphase (G IV) erreicht ( $11,3 \pm 2,7$  G/l) und nicht mit Beginn des Stadiums III der Geburt (*Grafik 33*). Dies entsprach einer Steigerung um 53,7 %, berechnet vom Level einen Tag vor dem Partus ( $p < 0,001$ ).

Von der zwölften Stunde p.p. bis zum zweiten Tag p.p. fielen die durchschnittlichen Konzentrationen der Leukozyten auf Werte  $< 7,0$  G/l ( $- 41,4$  %;  $p < 0,001$ ) und blieben auf diesem Niveau bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes (*Grafik 33*).



Grafik 33: Verlauf der intravasalen Leukozytenkonzentrationen bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode ( $n = 18$ ) von der zweiten Woche a.p. bis zum dritten Tag p.p. (siehe Tabelle 1 Anhang)

G II = Beginn der Austreibungsphase

G IV = Ende der Austreibungsphase

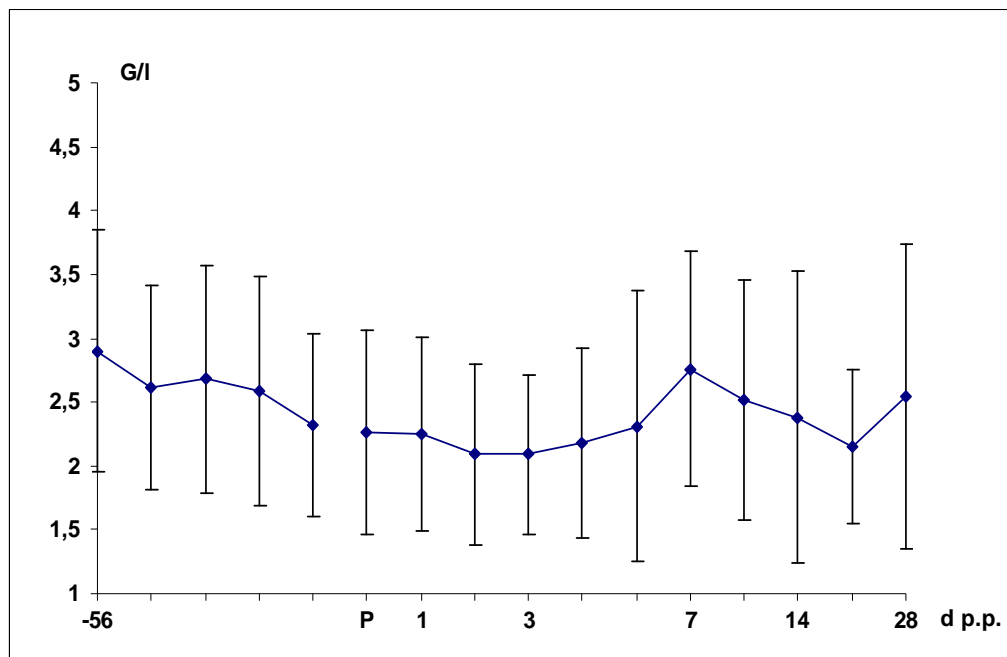
Da die Leukozytenzahlen nur eine unspezifische Immunitätslage repräsentieren, wurde eine differenzierte Auswertung hinsichtlich der Lymphozytenkonzentrationen, den Vorläufern der

immunglobulinproduzierenden Plasmazellen, zu den einzelnen Messzeiten bei Kühen mit komplikationsloser Gestation, Geburt und postpartaler Periode vorgenommen.

Wie aus Grafik 34 ersichtlich, konnte ein steter Abfall der durchschnittlichen Lymphozytengehalte vom Ende des siebten Monats der Gravidität bis zum Partus eruiert werden ( $2,9 \pm 1,0$  G/l auf  $2,3 \pm 0,8$  G/l). Dies entsprach einer Reduktion um 20,7 %, gemessen vom Ausgangswert in der achten Woche a.p., die statistisch hoch signifikant war ( $p < 0,001$ ) (Grafik 34).

Bei der Betrachtung des gesamten Verlaufs der postpartalen Periode bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes ist erkennbar, dass die Lymphozytenwerte zwar gewissen Schwankung in einem Konzentrationsbereich zwischen 2,1 G/l und 2,8 G/l unterliegen. (Grafik 34). Jedoch kam es vom Partus bis zur vierten Woche p.p insgesamt zu einer Zunahme der Lymphozytengehalte im Blut (von  $2,3 \pm 0,8$  G/l auf  $2,5 \pm 1,2$  G/l), die statistisch zu sichern gewesen war ( $p = 0,026$ ).

Die Erhöhung der Leukozytenzahl sub partu ist vor allem auf die Zunahme der neutrophilen Granulozyten zurück zu führen.



Grafik 34: Verlauf der Lymphozytenkonzentration im Blut bei Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode ( $n = 18$ ) von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p. (siehe Tabelle 1 Anhang)

#### **4.7 Beziehungen zwischen Gehalt an Kortisol und Konzentrationen des $T_3$ , $fT_3$ , $T_4$ sowie $fT_4$ zu den intravasalen IgG- und IgM-Werten sowie zur Leukozyten- und Lymphozytenzahl**

Nach Auswertung der Einzelparameter werden im Folgenden die Beziehungen der einzelnen Messgrößen zueinander dargestellt. Dazu wurden die Kreuzkorrelationen zwischen je zwei Zeitreihen berechnet. Zuvor ist der Mittelwert der betreffenden Variablen von den Messwerten dieser Probanden abgezogen worden, um den Tiereinfluß zu reduzieren.

Auf dieser Grundlage wurde ermittelt, dass Kreuzkorrelationen zwischen den Konzentrationen von  $T_4$ ,  $fT_4$  und Kortisol zu den intravasalen IgG-Werten bestehen (*Tab. 23*). Dagegen konnten keine Kreuzkorrelationen zwischen den Zeitreihen der  $T_3$ - und  $fT_3$ - zu den IgG-Konzentrationen eruiert werden.

In der antepartalen Phase, vom Ende der Laktationsperiode bis zum Partus, kam es sowohl bei den intravasalen  $T_4$ -Konzentrationen ( $4,8 \pm 1,7 \mu\text{g/dl}$  auf  $2,4 \pm 0,7 \mu\text{g/dl}$ ) als auch bei denen des IgG ( $36,8 \pm 11,6 \text{ mg/ml}$  auf  $15,0 \pm 6,4 \text{ mg/ml}$ ) gleichermaßen zu einem steten Abfall (*Tab. 23*). Somit reduzierten sich die Gehalte an  $T_4$  um 50,0 % und die des IgG um 59,2 %. Der Kreuzkorrelationskoeffizient betrug für diese zwei Zeitreihen  $r = 0,27$  ( $p < 0,01$ ).

In der gesamten postpartalen Periode bis zur vierten Woche p.p. verharrten die  $T_4$ -Titer auf erniedrigtem Niveau zwischen  $1,8 \mu\text{g/dl}$  und  $2,5 \mu\text{g/dl}$ , während die des IgG bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes auf  $36,2 \pm 9,9 \text{ mg/ml}$  stetig anstiegen (*Tab. 23*).

In gleicher Weise verhielt es sich beim Vergleich der intravasalen  $fT_4$ -Werte zu den IgG-Konzentrationen. Vom Zeitpunkt der Trockenstellung bis zum Geburtsgeschehen zeigte sich ein konstanter Abfall der Konzentrationen von  $1,05 \pm 0,26 \text{ ng/dl}$  auf  $0,62 \pm 0,15 \text{ ng/dl}$ . Dies entsprach einer Gesamtreduktion um 41,0 % (*Tab. 23*). Der Kreuzkorrelationskoeffizient zur Zeitreihe der IgG-Gehalte bezifferte sich auf  $r = 0,31$  ( $p < 0,001$ ).

Ein etwas anderes Verhältnis bestand zwischen den intravasalen Kortisol- zu den IgG-Konzentrationen im Plasma. Während die antepartalen Kortisoltiter auf relativ gleichem, niedrigem Niveau verharrten (zwischen  $1,7 \text{ ng/ml}$  und  $3,2 \text{ ng/ml}$ ), war sub partu ein sprunghafter Anstieg auf  $6,2 \pm 2,8 \text{ ng/ml}$  gegeben. Zum gleichen Zeitpunkt wiesen die

Probanden mit  $15,0 \pm 6,4$  mg/ml aber den niedrigsten IgG-Gehalt des gesamten Untersuchungszeitraumes auf (Tab. 23). Diese zwei Phänomene standen intra partum im direkten Verhältnis zueinander ( $r = -0,26$ ), was statistisch zu sichern gewesen war ( $p < 0,01$ ).

Tabelle 23: Intravasale T<sub>4</sub>- (n = 10), fT<sub>4</sub>- (n = 10), Kortisol- (n = 18) und IgG-

Konzentrationen (n = 18) von Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p.

Zeitpunkt (d p.p.)	T <sub>4</sub> (µg/dl) (a)	fT <sub>4</sub> (ng/dl) (b)	Kortisol (ng/ml) (c)	IgG (mg/ml) (d)
- 56	4,8	1,05	3,2	36,8
- 42	4,2	0,97	2,2	34,6
- 28	3,8	0,9	1,4	29,0
- 14	3,6	0,83	1,7	25,5
Partus	2,4	0,62	6,2	15,0
1	2,4	0,6	2,2	19,7
3	2,3	0,61	1,8	20,9
5	2,0	0,59	1,2	24,0
7	1,8	0,6	1,2	24,8
14	2,2	0,66	1,1	32,2
21	2,5	0,71	1,2	31,6
28	2,2	0,63	2,2	36,2

a : d     $p < 0,01$

b : d     $p < 0,001$

c : d     $p < 0,01$

In Analogie zu den IgG-Konzentrationen ergaben sich für das IgM auch Kreuzkorrelationen zu den Zeitreihen des T<sub>4</sub> sowie des fT<sub>4</sub>, jedoch nicht zu der des Kortisols (Tab. 24).

Wie bereits beschrieben, reduzierten sich die T<sub>4</sub>-Titer vom Ende des siebten Monates der Gravidität bis zum Partus um 50 %. In der Zeitspanne von der vierten Woche a.p. bis zum Geburtsgeschehen kam es ebenfalls zu einer Verminderung der intravasalen IgM-Titer von  $6,7 \pm 5,3$  mg/ml auf  $3,7 \pm 2,5$  mg/ml (- 44,8 %). In der postpartalen Phase bis zur vierten Woche p.p. verharrten die IgM-Werte, im Gegensatz zu denen des IgG, auf konstant

niedrigem Niveau zwischen 3,5 mg/ml und 5,0 mg/ml. In gleicher Weise lagen auch die  $T_4$ -Gehalte auf einer erniedrigten Ebene zwischen 1,8  $\mu\text{g/dl}$  und 2,5  $\mu\text{g/dl}$  (Tab. 24). Der Kreuzkorrelationskoeffizient dieser zwei Zeitreihen wies einen Wert von  $r = 0,26$  auf ( $p < 0,01$ ).

Eine ähnliche Situation zeigte sich beim Vergleich der IgM-Konzentrationen zu denen des  $fT_4$ . Die intravasalen  $fT_4$ -Gehalte verminderten sich in der präpartalen Periode (achte Woche a.p. bis Partus), wie bereits angeführt, um 41 %. Im Zeitraum nach dem Geburtsgeschehen bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes (vierte Woche p.p.) bewegten sich diese ebenfalls auf niedrigem Niveau (0,59 ng/dl und 0,72 ng/dl), in Analogie zu den Konzentrationen des  $T_4$  und IgM (Tab. 24). Die beiden Zeitreihen ( $fT_4$  zu IgM) waren mit einem Koeffizienten von  $r = 0,24$  kreuzkorreliert ( $p < 0,01$ ).

Weitere Auswertungen ergaben, dass keine Kreuzkorrelationen zwischen den Zeitreihen der  $T_3$ -,  $fT_3$ - sowie der Kortisolkonzentrationen zu den IgM-Werten bestanden.

Tabelle 24: Intravasale  $T_4$ - (n = 10),  $fT_4$ - (n = 10) und IgM- Konzentrationen (n = 18) von Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p.

Zeitpunkt (d p.p.)	$T_4$ ( $\mu\text{g/dl}$ ) (a)	$fT_4$ (ng/dl) (b)	IgM (mg/ml) (c)
- 56	4,8	1,05	6,1
- 42	4,2	0,97	6,3
- -28	3,8	0,9	6,7
- 14	3,6	0,83	4,0
Partus	2,4	0,62	3,7
1	2,4	0,6	4,2
3	2,3	0,61	4,3
5	2,0	0,59	3,6
7	1,8	0,6	3,9
14	2,2	0,66	3,7
21	2,5	0,71	3,9
28	2,2	0,63	4,4

a : c  $p < 0,01$

b : c  $p < 0,01$

Anhand dieser Ergebnisse war es von Interesse, jeweils die zwei Einzeltiere mit den höchsten und niedrigsten intrapartalen Kortisolgehalte in ihrem Verlauf der Immunglobulinkonzentrationen zu betrachten.

Bemerkenswert war, dass die zwei Probanden mit den höchsten intrapartalen Kortisolkonzentrationen (E 13, E 14) auch die Tiere waren, welche einen hohen präpartalen Abfall (achte Woche a.p. bis zum Partus) der IgG-Level, im Größenbereich von 16,6 bis 29,2 mg/ml, aufwiesen, obwohl es keine Korrelation zwischen den beiden Messgrößen gibt. Zusätzlich konnten eine relativ niedrige intrapartale IgG Konzentrationen bestimmt werden (9,5 mg/ml und 9,6 mg/ml) (Tab. 25).

In gleicher Weise verhielt es sich mit den IgM-Konzentrationen. Diese zwei Tiere (E 13, E 14) wiesen ebenfalls einen hohen präpartalen Abfall (vierte Woche a.p. bis zum Partus), in einer Höhe von 5,6 mg/ml und 5,9 mg/ml, an intravasalem IgM und relativ niedrige intrapartale Werte (1,9 mg/ml bis 5,6 mg/ml) auf, obgleich auch hier lediglich sub partu eine Korrelation zwischen beiden Parametern besteht. (Tab. 25).

Tabelle 25: Durchschnittlicher präpartaler Abfall (von der achten Woche a.p. bis zum Partus) und intrapartaler Wert der intravasale IgG- sowie IgM-Konzentrationen von den zwei Milchkühen mit dem höchsten Kortisolgehalt i.p. (Angaben in mg/ml)

<b>Proband</b>	<b>Kortisol-konzentration i.p. (ng/ml)</b>	<b>präpartaler intravasaler IgG-Abfall (bis i.p.)</b>	<b>intravasale IgG-Konzentration i.p.</b>	<b>präpartaler intravasaler IgM-Abfall (bis i.p.)</b>	<b>intravasale IgM-Konzentration i.p.</b>
E 13	8,8	16,6	9,5	5,6	5,6
E 14	8,0	29,2	9,6	5,9	1,9

Bei der Gegenüberstellung der Kortisolkonzentrationen zu den intravasalen IgG- und IgM-Gehalten zeigte sich weiterhin, dass die Tiere mit den niedrigsten intrapartalen Kortisolwerten auch einen relativ geringen präpartalen Abfall der intravasalen IgG- (4,0 mg/ml bis 17,4 mg/ml) und IgM-Konzentrationen (0,6 mg/ml bis 2,6 mg/ml) hatten (Tab. 26).



Weiterhin konnte bei diesen zwei Probanden beobachtet werden, dass die intrapartalen Konzentrationen an IgG (11,9 mg/ml bis 18,3 mg/ml) und IgM (3,1 mg/ml bis 3,7 mg/ml), im Gegensatz zu den Kühen mit den höchsten intrapartalen Kortisolwerten, relativ hoch waren (Tab. 26).

Tabelle 26: Durchschnittlicher präpartaler Abfall (von der achten Woche a.p. bis zum Partus) und intrapartaler Wert der intravasale IgG- sowie IgM-Konzentrationen von den zwei Milchkühen mit dem niedrigsten Kortisolgehalt i.p. (Angaben in mg/ml)

<b>Proband</b>	<b>Kortisol- konzentration i.p. (ng/ml)</b>	<b>präpartaler intravasaler IgG-Abfall (bis i.p.)</b>	<b>intravasale IgG- Konzentration i.p.</b>	<b>präpartaler intravasaler IgM-Abfall (bis i.p.)</b>	<b>intravasale IgM- Konzentration i.p.</b>
E 8	2,4	17,4	18,3	2,6	3,1
E 10	4,0	11,3	14,6	0,6	3,7

Bei der weiteren Analyse ergaben sich für die Leukozytenkonzentrationen im Blut komplett andere Kreuzkorrelationen als beim IgG und IgM. Beziehungen bestanden zwischen den Zeitreihen des  $T_3$ ,  $fT_3$  sowie des Kortisols zu der der Leukozyten (Tab. 27), aber nicht zwischen dem zeitlichen Verlauf der Leukozytenkonzentrationen zu denen des  $T_4$  und  $fT_4$ .

Im Abschnitt von der Trockenstellung bis kurz vor der Geburt pendelten die Leukozytengehalte nahezu konstant zwischen 6,8 G/l und 7,4 G/l. Erst unter der Geburt kam es zu einem sprunghaften Anstieg auf  $10,1 \pm 1,8$  G/l (+ 36,5 %), dem ein Abfall der Leukozytenwerte bis zum fünften Tag p.p. auf  $6,0 \pm 1,8$  G/l folgte. Diese Reduktion bezifferte sich auf 40,6 %. Bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes bewegten sich die Leukozytengehalte in einem Bereich zwischen 5,9 G/l und 6,5 G/l. Während die intravasalen  $T_3$ -Konzentrationen in der präpartalen Periode bis zum Partus annähernd gleich blieben (0,84 ng/ml bis 0,92 ng/ml), konnte nach dem Geburtsgeschehen, in Analogie zu den Leukozyten, ein steter Abfall bis zum fünften Tag p.p. ( $0,59 \pm 0,16$ ) verzeichnet werden. Ausgehend vom intrapartalen Wert ( $0,84 \pm 0,25$ ) betrug diese Reduktion 29,8 % (Tab. 27). In der Folge lagen

die T<sub>3</sub>-Titer, ähnlich wie die der Leukozyten, bis zur vierten Woche p.p., in einem konstanten Bereich (0,60 ng/ml bis 0,74 ng/ml). Der Kreuzkorrelationskoeffizient dieser zwei Zeitreihen bezifferte sich auf  $r = 0,32$  ( $p < 0,01$ ).

Ein ähnlicher Zusammenhang ergab sich beim Vergleich der intravasalen fT<sub>3</sub>- zu den Leukozytengehalten. Auch hier kam es in der Gesamtbetrachtung des antepartalen Verlaufes der Kurve zu keiner signifikanten Änderung. Die Werte schwankten zwischen 3,1 pg/ml und 3,5 pg/ml. Erst nach Expulsion der Frucht verminderten sich die fT<sub>3</sub>-Konzentrationen gleichermaßen bis zum fünften Tag p.p. auf  $2,5 \pm 0,5$  pg/dl. Wird der intrapartale Wert ( $3,2 \pm 0,6$  pg/dl) gleich 100 % gesetzt, beträgt die Abnahme 21,9 % (Tab. 27). Der Kreuzkorrelationskoeffizient hat einen Wert von  $r = 0,34$  ( $p < 0,01$ ). In der späteren postpartalen Periode erhöhten sich die fT<sub>3</sub>-Level bis zur dritten Woche p.p. kontinuierlich auf  $2,8 \pm 0,5$  pg/ml, im Gegensatz zu denen des T<sub>3</sub> und der Leukozyten.

Eine andere Beziehung besteht zwischen den Kortisol- zu den Leukozytenwerten. Beide Kurvenverläufe zeigten nach einer relativen Konstanz in der präpartalen Phase einen sprunghaften Anstieg der Konzentrationen sub partu. Gemessen vom Gehalt in der zweiten Woche vor der Geburt bezifferte sich die Zunahme des Kortisollevels sub partu auf 264,7 %, die der Leukozytenzahl auf 44,3 %. (Tab. 27) Nach dem Partus kam es bei den zwei Parametern zu einer konstanten Abnahme, wobei für beide Konzentrationen ein Minimum am fünften Tag p.p. vorlag (Kortisol:  $1,2 \pm 1,0$  ng/ml; Leukozyten:  $6,0 \pm 1,8$  G/l). Ausgehend vom intrapartalen Wert entsprach dies einer Reduktion um 80,6 % (Kortisol) respektive 40,6 % (Leukozyten). Bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes (vierte Woche p.p.) wiesen beide Messgrößen, wie bereits beschrieben, wiederum eine relative Konstanz der Konzentrationen auf (Tab. 27). Die beiden Zeitreihen waren mit einem Koeffizient von  $r = 0,41$  kreuzkorreliert ( $p < 0,001$ ).

Die weiteren Auswertungen ergaben keine Kreuzkorrelationen zwischen den Zeitreihen der T<sub>4</sub>- und fT<sub>4</sub>- zu den Leukozytenkonzentrationen.

Tabelle 27: Intravasale T<sub>3</sub>- (n = 10), fT<sub>3</sub>- (n = 10), Kortisol- (n = 18) und Leukozytenkonzentrationen (n = 18) von Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p.

Zeitpunkt (d p.p.)	T <sub>3</sub> (ng/ml) (a)	fT <sub>3</sub> (pg/dl) (b)	Kortisol (ng/ml) (c)	Leukozyten (G/l) (d)
- 56	0,91	3,5	3,2	7,3
- 42	0,92	3,4	2,2	6,8
- -28	0,78	3,1	1,4	7,0
- 14	0,82	3,2	1,7	7,0
Partus	0,84	3,2	6,2	10,1
1	0,74	3,0	2,2	8,0
3	0,68	2,8	1,8	6,4
5	0,59	2,5	1,2	6,0
7	0,60	2,6	1,2	6,3
14	0,66	2,7	1,1	5,9
21	0,74	2,8	1,2	6,4
28	0,64	2,6	2,2	6,5

a : d p < 0,01

b : d p < 0,01

c : d p < 0,001

Schließlich bedurfte es der Überprüfung, ob es zwischen den Verschiebungen der Immunglobulinwerte sowie der Gehalte an Schilddrüsenhormonen im Blut zeitliche Beziehungen zu den Konzentrationsänderungen der Lymphozyten gibt (Tab. 28 und 29). Dabei konnten Kreuzkorrelationen zwischen den Lymphozyten und den IgG- / IgM-Titern sowie den T<sub>4</sub>-, fT<sub>4</sub>-, T<sub>3</sub>- und fT<sub>3</sub>-Werten ermittelt werden.

In der antepartalen Phase, vom Zeitpunkt der Trockenstellung bis zum Partus, kam es sowohl bei den intravasalen Lymphozytenkonzentrationen ( $2,9 \pm 1,0$  G/l auf  $2,3 \pm 0,8$  G/l) als auch bei denen des IgG ( $36,8 \pm 11,6$  mg/ml auf  $15,0 \pm 6,4$  mg/ml) gleichermaßen zu einer steten Reduktion (Tab. 28). Somit verminderten sich die Gehalte an Lymphozyten um 20,7 %, die des IgG um 59,2 %. Nach Expulsion der Frucht war, bis zur vierten Woche p.p., sowohl ein Anstieg der Lymphozyten- (auf  $2,5 \pm 1,2$  G/l) als auch der IgG-Werte ( $36,2 \pm 9,9$  mg/ml) zu

verzeichnen (Tab. 28). Der Kreuzkorrelationskoeffizient betrug für diese zwei Zeitreihen  $r = 0,14$  ( $p = 0,01$ ).

In ähnlicher Weise verhielt es sich beim Vergleich der intravasalen Lymphozytenwerte zu den IgM-Konzentrationen. Von der vierten Woche a.p. bis zum Geburtsgeschehen zeigte sich sowohl ein konstanter Abfall der Lymphozyten- ( $2,7 \pm 0,9$  G/l auf  $2,3 \pm 0,8$  G/l) als auch der IgM-Gehalte ( $6,7 \pm 5,3$  mg/ml auf  $3,7 \pm 2,5$  mg/ml) im Blut. Dies entsprach einer Gesamtreduktion um 14,8 % (Lymphozyten) respektive 44,8 % (IgM) (Tab. 28). Der Kreuzkorrelationskoeffizient dieser beiden Zeitreihen bezifferte sich auf  $r = 0,15$  ( $p < 0,001$ ).

In der gesamten postpartalen Periode bis zur vierten Woche p.p. verharrten die IgM-Titer auf erniedrigtem Niveau zwischen 3,5 mg/ml und 5,0 mg/ml, während die der Lymphozyten bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes auf  $2,5 \pm 1,2$  G/l anstiegen (Tab. 28).

Tabelle 28: Intravasale Lymphozyten-, IgG- und IgM-Konzentrationen ( $n = 18$ ) von Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p.

Zeitpunkt (d p.p.)	Lymphozyten (G/l) (a)	IgG (mg/ml) (b)	IgM (mg/ml) (c)
- 56	2,9	36,8	6,1
- 42	2,6	34,6	6,3
- -28	2,7	29,0	6,7
- 14	2,6	25,5	4,0
Partus	2,3	15,0	3,7
1	2,3	19,7	4,2
3	2,1	20,9	4,3
5	2,2	24,0	3,6
7	2,8	24,8	3,9
14	2,4	32,2	3,7
21	2,2	31,6	3,9
28	2,5	36,2	4,4

a : b  $p = 0,01$

a : c  $p < 0,001$

In Analogie zu den Immunglobulinkonzentrationen ergaben sich für die Schilddrüsenhormone auch Kreuzkorrelationen zum zeitlichen Verlauf der Lymphozytenwerte (*Tab. 29*).

Wie bereits beschrieben, reduzierten sich die Lymphozytengehalte im Blut vom Ende des siebten Monates der Gravidität bis zum Partus um 20,7 %. In dieser Zeitspanne kam es gleichermaßen zu einer tendenziellen Absenkung der intravasalen  $T_3$ - ( $0,9 \pm 0,2$  ng/ml auf  $0,8 \pm 0,1$  ng/ml; - 11,1 %) und  $fT_3$ -Titer ( $3,5 \pm 0,5$  pg/ml auf  $3,2 \pm 0,6$  pg/ml; - 8,6 %). Der Kreuzkorrelationskoeffizient der Zeitreihe der Lymphozyten zu der des  $T_3$  wies einen Wert von  $r = 0,18$  ( $p < 0,05$ ), der zu den zeitlichen Veränderungen des  $fT_3$  einen von  $r = 0,26$  ( $p < 0,01$ ) auf.

Die gleiche Situation zeigte sich beim Vergleich der Lymphozytenkonzentrationen zu denen des  $T_4$  und  $fT_4$ . Die intravasalen  $T_4$ -Gehalte verminderten sich in der präpartalen Periode, von der achten Woche a.p. bis zum Partus, signifikant um 50,0 % ( $4,8 \pm 1,7$  µg/dl auf  $2,4 \pm 0,7$  µg/dl), die des  $fT_4$  um 41,0 % ( $1,05 \pm 0,26$  ng/dl auf  $0,62 \pm 0,15$  ng/dl). Die Zeitreihen der Lymphozyten und des  $T_4$  waren mit einem Koeffizienten von  $r = 0,36$  ( $p < 0,001$ ), die der Lymphozyten und des  $fT_4$  mit einem Koeffizienten von  $r = 0,31$  kreuzkorreliert ( $p < 0,001$ ).

In der postpartalen Phase bis zur vierten Woche p.p. verharrten alle vier Schilddrüsenwerte ( $T_3$ ,  $fT_3$ ,  $T_4$ ,  $fT_4$ ), wie bereits beschrieben, auf konstant niedrigem Niveau während die Lymphozytenkonzentrationen anstiegen (*Tab. 29*).

Weitere Auswertungen ergaben, dass keine Kreuzkorrelation zwischen der Zeitreihe der Lymphozyten und der des Kortisols bestand.

Tabelle 29: Intravasale Lymphozyten- (n = 18), T<sub>3</sub>- (n = 10), fT<sub>3</sub>- (n = 10), T<sub>4</sub>- (n = 10) und fT<sub>4</sub>-Konzentrationen (n = 10) von Milchrindern mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p.

Zeitpunkt (d p.p.)	Lymphozyten (G/l) (a)	T <sub>3</sub> (ng/ml) (b)	fT <sub>3</sub> (pg/dl) (c)	T <sub>4</sub> (µg/dl) (d)	fT <sub>4</sub> (ng/dl) (e)
- 56	2,9	0,91	3,5	4,8	1,1
- 42	2,6	0,92	3,4	4,2	1,0
- -28	2,7	0,78	3,1	3,8	0,9
- 14	2,6	0,82	3,2	3,6	0,8
Partus	2,3	0,84	3,2	2,4	0,6
1	2,3	0,74	3,0	2,4	0,6
3	2,1	0,68	2,8	2,3	0,6
5	2,2	0,59	2,5	2,0	0,6
7	2,8	0,60	2,6	1,8	0,6
14	2,4	0,66	2,7	2,2	0,7
21	2,2	0,74	2,8	2,5	0,7
28	2,5	0,64	2,6	2,2	0,6

a : b p < 0,05

a : c p < 0,01

a : d p < 0,001

a : e p < 0,001

#### 4.8 Beziehung zwischen dem Geburtsablauf und den intravasal intrapartalen IgG-, IgM- sowie Kortisolkonzentrationen

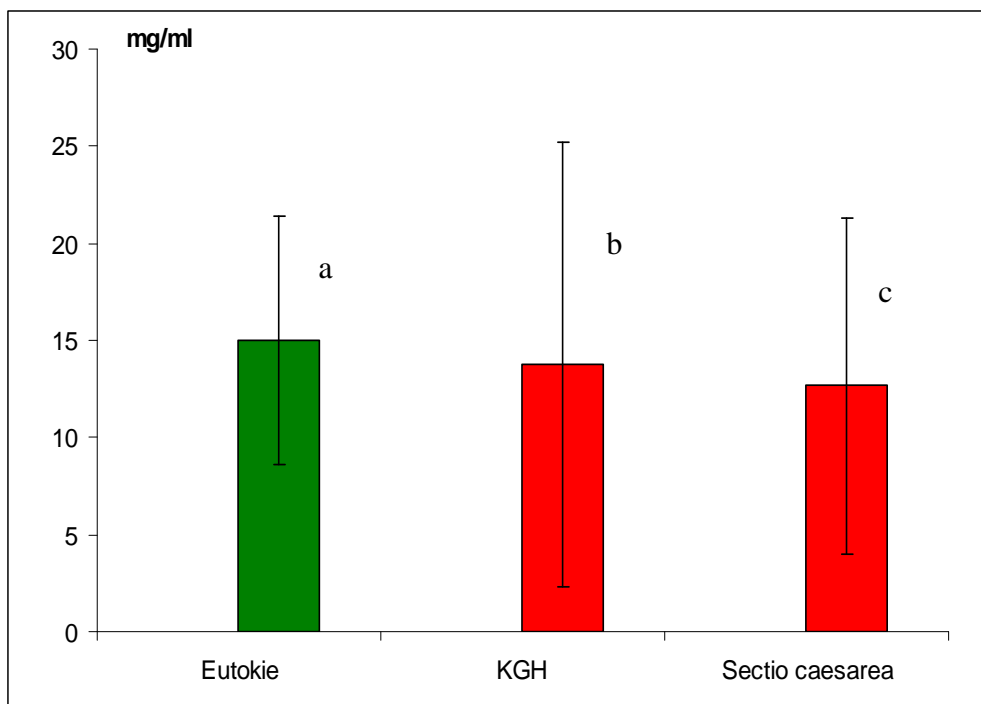
Im Weiteren war auszuwerten, ob direkte Beziehungen zwischen dem Geburtsablauf zu den intravasalen IgG- und IgM- sowie den Kortisolwerten sub partu bestehen. Hierfür ließen sich zusätzlich zu den Daten der 18 Milchrinder mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode (Kontrollgruppe) die von drei Tieren mit komplikationsfreier Geburt und gestörter postpartaler Periode ( $6,0 \pm 2,6$  Jahre) sowie von 36 Tieren mit Dystokie (konservative Geburtshilfe (n = 16) oder Sectio caesarea (n = 20)) in die Auswertung mit einbeziehen.

Bei der Interpretation der Werte (IgG, IgM, Kortisol) ist zu berücksichtigen, dass bei den Rindern mit komplikationsfreier Geburt die Proben schon zu Beginn der Austreibungsphase

(G II) entnommen werden konnten, die erste Probenentnahme bei den Kühen mit Dystokie aber situationsbedingt erst zum Zeitpunkt des geburtshilflichen Eingreifens möglich war (G III). Der Beginn des Stadiums II der Geburt lag bei diesen Rindern im Durchschnitt mehr als sechs Stunden zurück. Deswegen wurde dieser Zeitpunkt der ersten Blutprobenentnahme bei den Probanden mit Dystokie als G III bezeichnet. G IV kennzeichnet das Ende der Austreibungsphase bei den Tieren mit Eutokie respektive den Abschluss der Extraktion des Fetus bei den Rindern mit Dystokie.

Wird der durchschnittliche intravasale IgG-Gehalt der Kontrollgruppe am Anfang der Austreibungsphase ( $15,0 \pm 6,4$  mg/ml) mit den arithmetischen Mittelwerten der Probanden mit Dystokie in Form einer konservativen Geburtshilfe (KGH) oder Sectio caesarea zu Beginn der assistierter Geburt verglichen, ist ersichtlich, dass die Gehalte nahezu auf gleicher Höhe lagen (*Grafik 35*). Kühe mit KGH wiesen eine intrapartale IgG-Konzentration von  $13,8 \pm 11,5$  mg/ml, Rinder, bei denen die Geburt nur durch eine Schnittentbindung beendet werden konnte einen Wert von  $12,7 \pm 8,7$  mg/ml auf (*Grafik 35*). Diese minimalen Differenzen zwischen den drei Gruppen waren statistisch nicht zu sichern gewesen ( $p > 0,05$ ).

Somit war die Möglichkeit gegeben, die beiden Dystokie-Untergruppen (KGH und Sectio caesarea) zu einer zusammen zu ziehen. Diese weiteren Auswertungen sind im Kapitel 4.9.2 dargestellt.



Grafik 35: Intravasale IgG-Konzentrationen von Milchrindern mit Eutokie (n = 21) am Anfang der Austreibungsphase (G II) im Vergleich zu solchen mit konservativer Geburtshilfe (KGH) (n = 16) oder Sectio caesarea (n = 20) zu Beginn der assistierten Geburt (G III) (siehe Tabelle 3 Anhang)

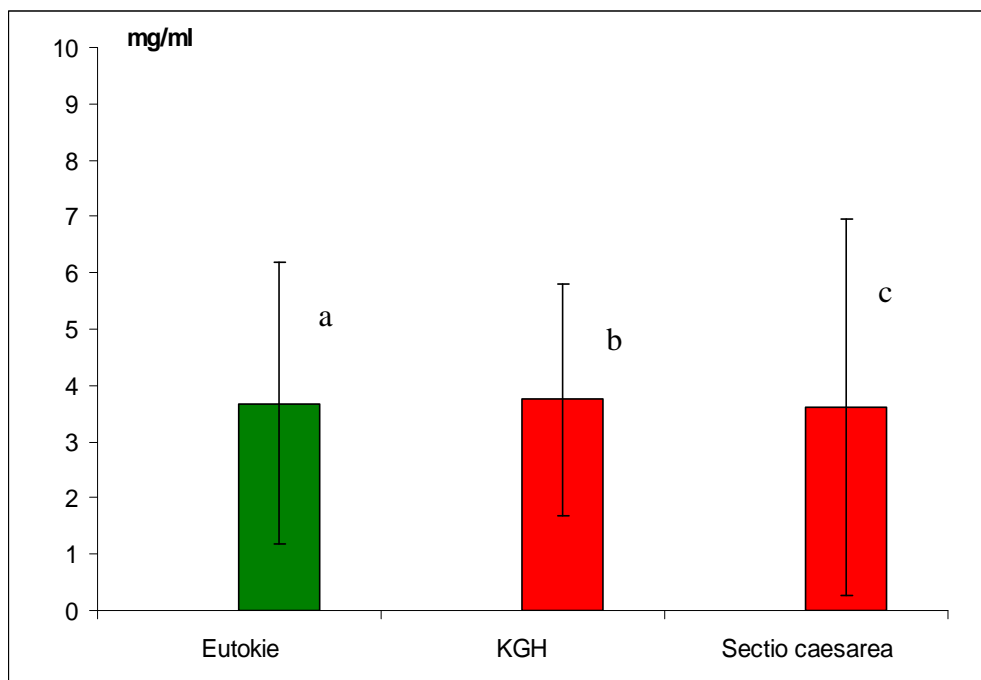
a : b      p > 0,05                      a : c      p > 0,05

Die gleiche Situation wie beim IgG ergab sich auch beim Vergleich der durchschnittlichen intrapartalen (G II und G III) IgM-Konzentrationen (*Grafik 36*).

Der arithmetische Mittelwert des IgM der Probanden mit KGH (G III) war mit  $3,8 \pm 2,1$  mg/ml nahezu deckungsgleich mit dem IgM-Gehalt (G II) der 18 Tiere der Kontrollgruppe ( $3,7 \pm 2,5$  mg/ml). Ebenso lag der IgM-Titer sub partu (G III) bei den Kühen, die per Sectio caesarea gebaren, mit  $3,6 \pm 3,3$  mg/ml auf dem gleichen Level der anderen Geburtsgruppen (p > 0,05) (*Grafik 36*).

Da auch hier kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Geburtsgruppen besteht, war die Möglichkeit gegeben, die beiden Dystokie-Untergruppen (KGH und Sectio caesarea) zu einer zusammen zu ziehen (siehe Kapitel 4.9.2).



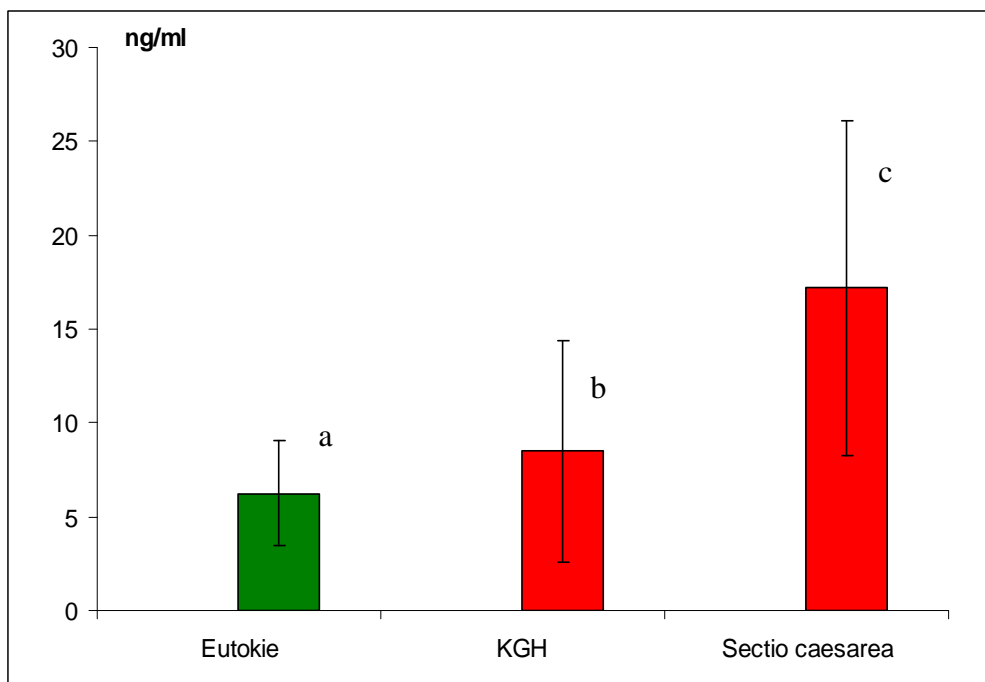


Grafik 36: Intravasale IgM-Konzentrationen von Milchrindern mit Eutokie (n = 21) am Anfang der Austreibungsphase (G II) im Vergleich zu solchen mit konservativer Geburtshilfe (KGH) (n = 16) oder Sectio caesarea (n = 20) zu Beginn der assistierten Geburt (G III) (siehe Tabelle 4 Anhang)

a : b      p > 0,05                      a : c      p > 0,05

Eine andere Lage als beim IgG und IgM war hinsichtlich der intrapartalen Kortisolkonzentrationen gegeben. Hier ließ sich eine Abhängigkeit zwischen Geburtsverlauf und Höhe der Kortisolwerte sub partu feststellen. Die Kontrolltiere mit Eutokie und späterer ungestörter postpartaler Periode wiesen einen durchschnittlichen Kortisolgehalt von  $6,2 \pm 2,8$  ng/ml sub partu auf (Grafik 37). Dagegen zeigten die Probanden, welche eine komplikationsbehaftete Geburt hatten, einen deutlich höheren Kortisollevel intra partum, wobei die Differenz statistisch gesichert werden konnte ( $p < 0,01$ ).

Bei den Kühen mit assistierter Geburt per vias naturalis (KGH) lag ein intrapartaler Gehalt an intravasalen Kortisol von  $8,5 \pm 5,9$  ng/ml vor. Dieser lag somit 36,4 % über dem Wert der Kontrolltiere ( $p < 0,01$ ). Ein Maximum der arithmetischen intrapartalen Konzentrationen an Kortisol wurde jedoch bei Rindern nach Schnittentbindung nachgewiesen. Ausgehend vom Gehalt der Kontrollgruppe hatten diese Probanden mit  $17,2 \pm 9,0$  ng/ml einen um 175,8 % erhöhten Wert ( $p < 0,01$ ) (Grafik 37).



Grafik 37: Intravasale Kortisolkonzentrationen von Milchrindern mit Eutokie (n = 21) am Anfang der Austreibungsphase (G II) und konservativer Geburtshilfe (KGH) (n = 16) oder Sectio caesarea (n = 20) zu Beginn der assistierten Geburt (G III) (siehe Tabelle 5 Anhang)

a : b      p < 0,01                      a : c      p < 0,01

#### 4.9 Beziehungen zwischen Verlauf der postpartalen Periode und intravasalem IgG- sowie IgM-Status

Aus klinischer Sicht waren die Fragestellungen von besonderem Interesse, wie sich zum einen die Immunglobulinwerte in der postpartalen Periode generell unter physiologischen Bedingungen verhalten und zum anderen, ob es Faktoren gibt, die diesen Immunglobulinstatus negativ beeinflussen. So lagen die Daten von 57 Kühen mit Eutokie oder Dystokie, unterteilt in Gruppen mit und ohne Störung in der postpartalen Periode, vor:

Eutokie (n = 21), davon:

18 Kühe mit ungestörter postpartaler Periode (Kontrolltiere)

3 Kühe mit gestörter postpartaler Periode

Dystokie (n = 36), davon:

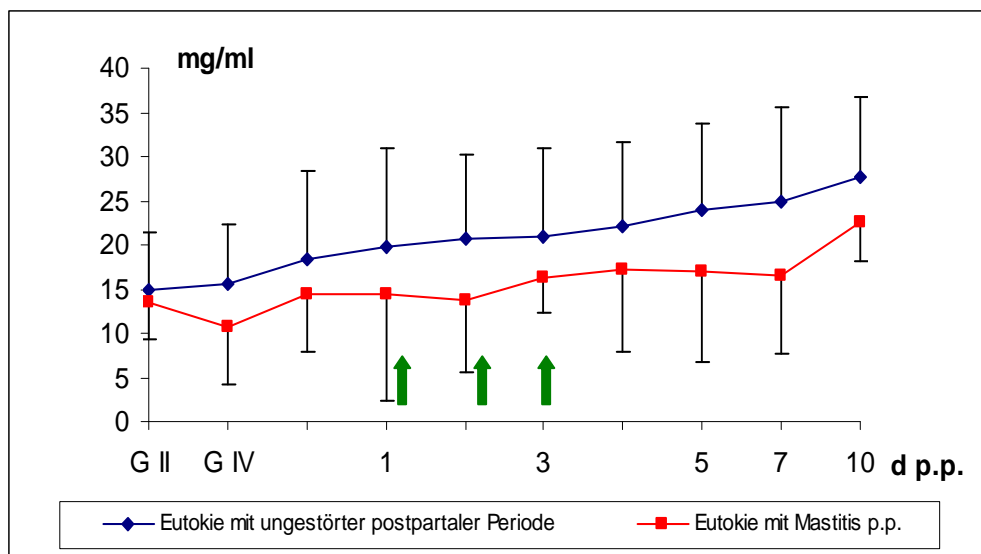
16 Kühe mit KGH (jeweils 8 Tiere ohne und mit gestörter postpartaler Periode)

20 Kühe mit Sectio caesarea (jeweils 10 Tiere ohne und mit gestörter postpartaler Periode)

#### **4.9.1 Beziehungen zwischen postpartalen Störungen und intravasalem IgG- sowie IgM-Status bei Tieren nach Eutokie**

Während die Kontrolltiere bereits zu Beginn der Nachgeburtsphase und fortlaufend bis zum zehnten Tag p.p. einen Anstieg der durchschnittlichen IgG-Konzentration aufwiesen ( $15,6 \pm 6,8$  mg/ml bis  $27,7 \pm 9,2$  mg/ml), kam es bei den drei Probanden, die zwar komplikationsfrei geboren hatten, aber in der Zeit von ein bis drei Tagen nach dem Partus eine postpartale Störung in Form einer klinisch erfassbaren Mastitis entwickelten, zu einem wesentlich protrahierterem Anstieg, der dazu noch geprägt war von wechselnden Zu- und Abnahmen. So lag die Durchschnittskonzentration bei diesen drei Tieren mit  $22,5 \pm 4,4$  mg/ml am zehnten Tag p.p. um 18,8 % unter dem Referenzwert der Tiere nach Eutokie und ungestörter postpartaler Periode ( $27,7 \pm 9,2$  mg/ml) (*Grafik 38*). Allerdings konnte diese Differenz nicht statistisch gesichert werden ( $p > 0,05$ ).

Beachtenswert ist, dass die drei Probanden, welche später an Mastitis litten, zwar mit  $13,6 \pm 4,3$  mg/ml zu Beginn der Austreibungsphase (G II) noch nahezu die gleichen Ausgangswerte wie die 18 Milchrinder nach Eutokie mit ungestörter postpartaler Periode (Kontrollgruppe) hatten ( $15,0 \pm 6,4$  mg/ml), aber bereits sub partu, bis zum Ende der Austreibungsphase (G IV), einem Abfall der durchschnittlichen IgG-Gehalte auf  $10,8 \pm 6,6$  mg/ml unterlagen. Dies entsprach einer Differenz von 30,8 %, im Vergleich zum IgG-Wert der Kontrolltiere. Obwohl dieses Resultat statistisch nicht zu sichern war, was am geringen Umfang der Gruppe mit Eutokie und postpartalen Störungen lag ( $p > 0,05$ ), ist diese Feststellung zumindest ansatzweise bemerkenswert.



Grafik 38: Verlauf der intravasalen IgG-Konzentrationen von Milchrindern nach Eutokie und ungestörter postpartaler Periode (n = 18) im Vergleich zu den Tieren, nach Eutokie und gestörter postpartaler Periode (n = 3) (siehe Tabelle 3 Anhang)

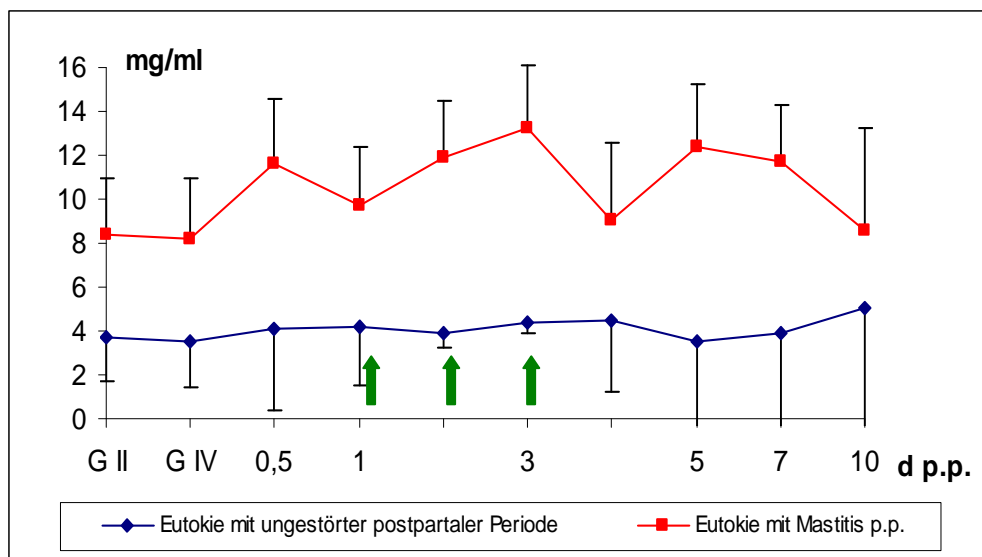
G II = Beginn der Austreibungsphase

G IV = Ende der Austreibungsphase

↑ = klinisch manifeste Mastitis

Im Gegensatz dazu ergab sich bei den IgM-Konzentrationen eine komplett andere Situation. Hierbei differierten schon die intrapartalen Gehalte enorm. Die drei Tiere, welche nach einer komplikationsfreien Geburt später unter einer Mastitis litten, hatten mit  $8,4 \pm 1,9$  mg/ml schon intrapartal (G II) einen um 128 % höheren intravasalen IgM-Level gegenüber den Kühen mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode (Kontrolltiere, n = 18;  $p > 0,05$ ) (Grafik 39).

Während die intravasalen Gehalte der Kontrolltiere im weiteren Verlauf auf einem Niveau zwischen 3,5 mg/ml und 5,0 mg/ml verharrten, zeigte der arithmetische Mittelwert der drei Rinder mit Mastitis nach Eutokie bis zum zehnten Tag p.p. einen undulierenden Verlauf. Die Werte lagen aber während des ganzen Beprobungszeitraumes deutlich über den Referenzwerten. Auch am zehnten Tag p.p. war dieser mit  $8,5 \pm 6,0$  mg/ml 65 % höher als der Wert der Kontrolltiere (Grafik 39). Jedoch konnte auch dies statistisch nicht gesichert werden, was sicher mit an der geringen Probandenzahl (n = 3) gelegen hat.



Grafik 39: Verlauf der intravasalen IgM-Konzentrationen von Milchrindern nach Eutokie und ungestörter postpartaler Periode (n = 18) im Vergleich zu den Tieren nach Eutokie und gestörter postpartaler Periode (n = 3) (siehe Tabelle 4 Anhang)

G II = Beginn der Austreibungsphase

G IV = Ende der Austreibungsphase

↑ = klinisch manifeste Mastitis

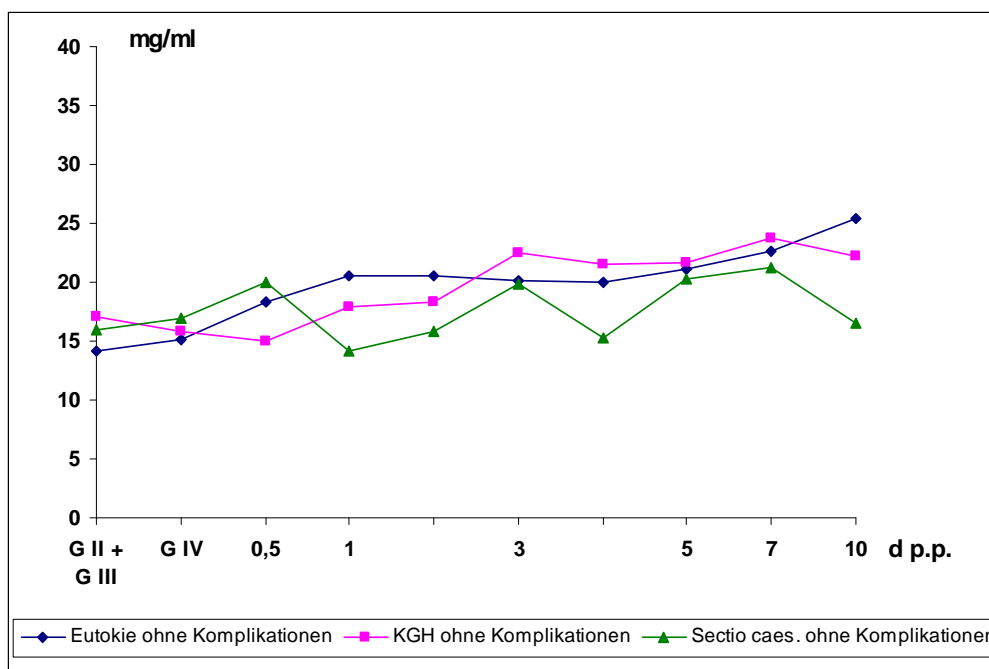
#### 4.9.2 Beziehungen zwischen postpartalen Störungen und intravasalem IgG- sowie IgM-Status bei Tieren nach Dystokie

Im Weiteren wurde überprüft, ob es eine Beziehung zwischen einem Auftreten von krankhaften Erscheinungen in der postpartalen Periode und dem intravasalen Gehalt an Immunglobulinen gibt. Um das Kriterium der postpartalen Störungen zu überprüfen, wurde das Probandenkollektiv mit Dystokie (KGH und Sectio caesarea) von vorneherein in zwei Untergruppen ohne und mit komplikationsbehafteter postpartaler Periode unterteilt. In dem letztgenannten Kollektiv lagen in allen Fällen bakterielle Belastungen vor, die zu einer teils fieberhaften Mastitis, Retentio secundinarum, postpartalen Septikämie und / oder zu einer postpartalen Endomyometritis geführt hatten.

Interessant ist, dass die Rinder nach KGH und komplikationsfreier postpartaler Periode zu Beginn der geburtshilflichen Manipulation (G III) einen arithmetischen Mittelwert von  $17,0 \pm$

13,4 mg/ml aufwiesen, die mit einer Sectio caesarea einen von  $16,0 \pm 9,7$  mg/ml (Kontrollgruppe:  $15,0 \pm 6,4$  mg/ml) (*Grafik 40*).

Im weiteren Beprobungszeitraum, bis zum zehnten Tag p.p., zeigte sowohl der Graph der Kühe nach KGH als auch nach Schnittentbindung einen undulierenden Verlauf, der sich innerhalb der Grenzen der Kontrolltiere befand (*Grafik 40*). Es konnten keine signifikanten Abweichungen eruiert werden ( $p > 0,05$ ).

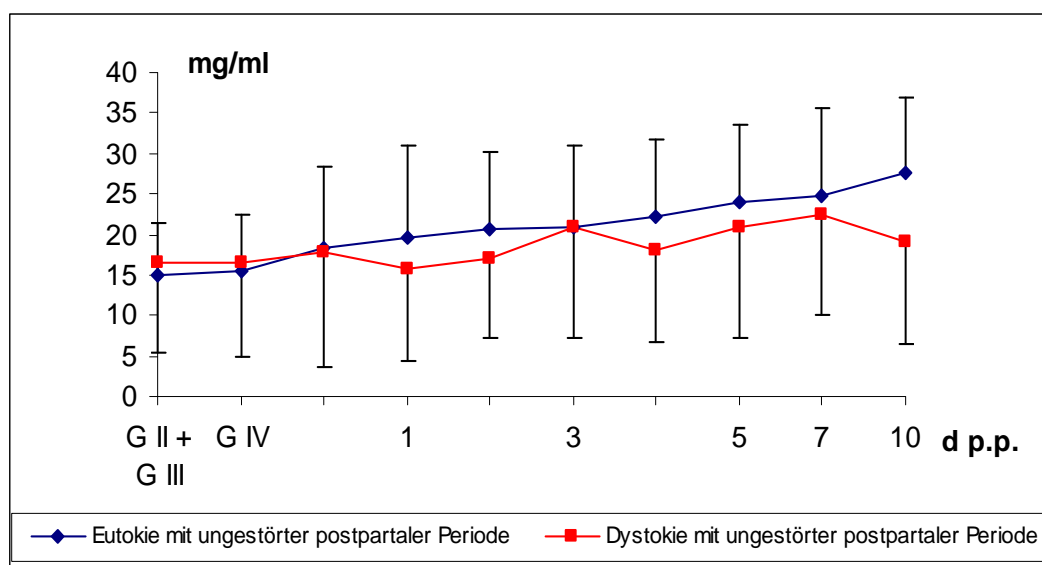


Grafik 40: Verlauf der intravasalen IgG-Konzentrationen von Milchrindern nach Eutokie (n = 18), nach konservativer Geburtshilfe (KGH) (n = 8) oder nach Sectio caesarea (n = 10) mit ungestörter postpartaler Periode (siehe Tabelle 3 Anhang)

G II = Beginn der Austreibungsphase bei den Rindern mit Eutokie  
 G III = Zeitpunkt des geburtshilflichen Eingreifens bei den Rindern mit Dystokie  
 G IV = Ende der Austreibungsphase (Eutokie) / Extraktion der Frucht (Dystokie)

Aufgrund dieser ermittelten Resultate wurde überprüft ob zwischen den beiden Geburtsgruppen (KGH und Sectio caesarea) ohne postpartale Störungen Differenzen bestehen. Dies konnte statistisch verneint werden, sodass beide Gruppen zusammengezogen wurden (*Grafik 41*).

Bemerkenswert ist, dass bei Tieren mit Dystokie (KGH und Sectio caesarea) sowohl die intravasalen IgG-Konzentrationen sub partu ( $16,5 \pm 11,1$  mg/ml; Kontrollgruppe:  $15,0 \pm 6,4$  mg/ml) als auch die Durchschnittswerte an den einzelnen Messpunkten bis zum zehnten Tag p.p. nahezu deckungsgleich mit den IgG-Gehalten der Kontrolltiere waren, wenn deren postpartale Periode ungestört blieb ( $p > 0,05$ ). Lediglich am Ende des Untersuchungszeitraumes (10. Tag p.p.) war eine geringe Divergenz der IgG-Titer ersichtlich (Eutokie:  $27,7 \pm 9,2$  mg/ml; Dystokie:  $19,0 \pm 12,6$  mg/ml), die allerdings statistisch nicht nachweisbar war ( $p > 0,05$ ) (*Grafik 41*).



Grafik 41: Verlauf der intravasalen IgG-Konzentrationen von Milchrindern nach Eutokie

( $n = 18$ ) und nach Dystokie (KGH und Sectio caesarea) ( $n = 18$ ) mit ungestörter postpartaler Periode (siehe Tabelle 3 Anhang)

G II = Beginn der Austreibungsphase bei den Rindern mit Eutokie

G III = Zeitpunkt des geburtshilflichen Eingreifens bei den Rindern mit Dystokie

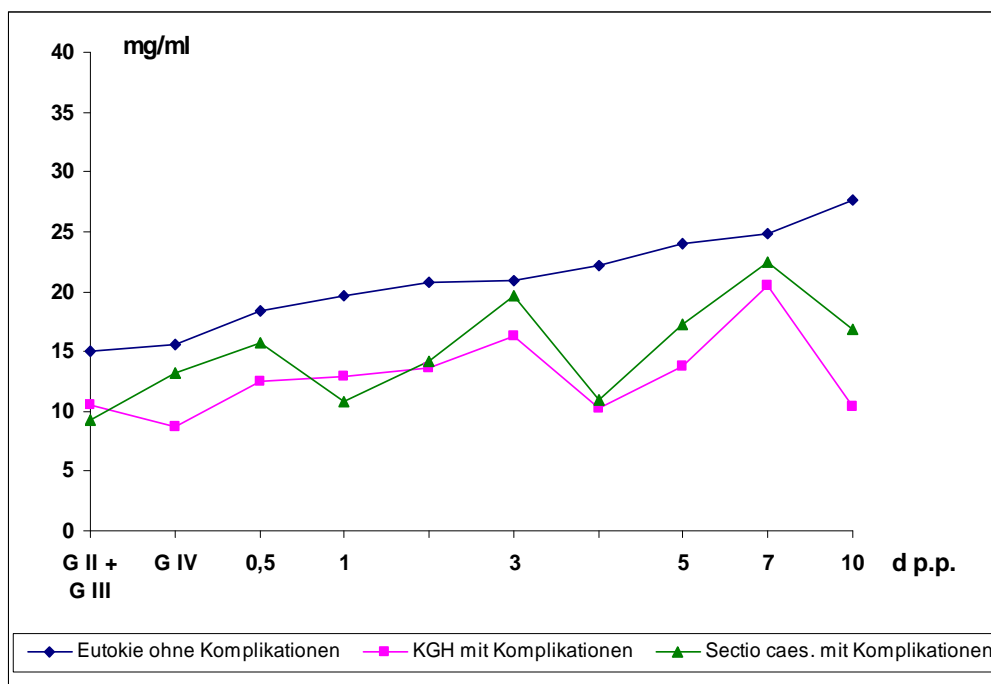
G IV = Ende der Austreibungsphase (Eutokie) / Extraktion der Frucht (Dystokie)

Weiterhin sind die zwei Geburtsgruppen (KGH oder Sectio caesarea), bei denen eine Störung in der postpartalen Periode auftrat einer näheren Betrachtung unterzogen worden.

Bei den Probanden nach KGH und anschließender postpartaler Störung konnte ein erniedrigter intravasaler Durchschnittsgehalt an IgG sub partu (G III) von  $10,6 \pm 8,8$  mg/ml nachgewiesen werden, bei denen mit Kaiserschnitt ein Wert (G III) von  $9,3 \pm 6,3$  mg/ml (Kontrolltiere:  $15,0 \pm 6,4$ ;  $p < 0,05$ ) (*Grafik 42*).

Im weiteren Verlauf war bis zum Ende der Beprobungsphase auch hier ein wellenförmiger Kurvenverlauf in beiden Geburtsgruppen mit postpartalen Störungen zu erkennen. Die IgG-Gehalte lagen aber in der ganzen Zeit sowohl deutlich unterhalb von denen, die bei Rindern mit KGH oder Sectio caesarea ohne postpartale Komplikationen zu messen gewesen sind ( $p < 0,01$ ) als auch unter den IgG-Konzentrationen der Kontrollgruppe ( $p < 0,05$ ). Am zehnten Tag p.p. verharren die IgG-Werte mit  $10,4 \pm 8,5$  mg/ml (KGH) respektive  $16,8 \pm 11,8$  mg/ml (Sectio caesarea) immer noch auf niedrigem Niveau gegenüber den Kontrolltieren mit Eutokie ( $27,7 \pm 9,2$  mg/ml), was statistisch zu sichern gewesen war ( $p < 0,05$ ) (Grafik 42).

Auch im Vergleich zu den Tieren nach assistierter Geburt ohne anschließende Störung in der postpartalen Periode lagen die Durchschnittswerte an IgG dieser Kühe mit postpartaler Störung deutlich niedriger ( $p < 0,01$ ).



Grafik 42: Verlauf der intravasalen IgG-Konzentrationen von Milchrindern nach Eutokie und ungestörter postpartaler Periode ( $n = 18$ ) sowie nach konservativer Geburtshilfe (KGH) ( $n = 8$ ) oder nach Sectio caesarea ( $n = 10$ ) mit gestörter postpartaler Periode (siehe Tabelle 3 Anhang)

G II = Beginn der Austreibungsphase bei den Rindern mit Eutokie

G III = Zeitpunkt des geburtshilflichen Eingreifens bei den Rindern mit Dystokie

G IV = Ende der Austreibungsphase (Eutokie) / Extraktion der Frucht (Dystokie)

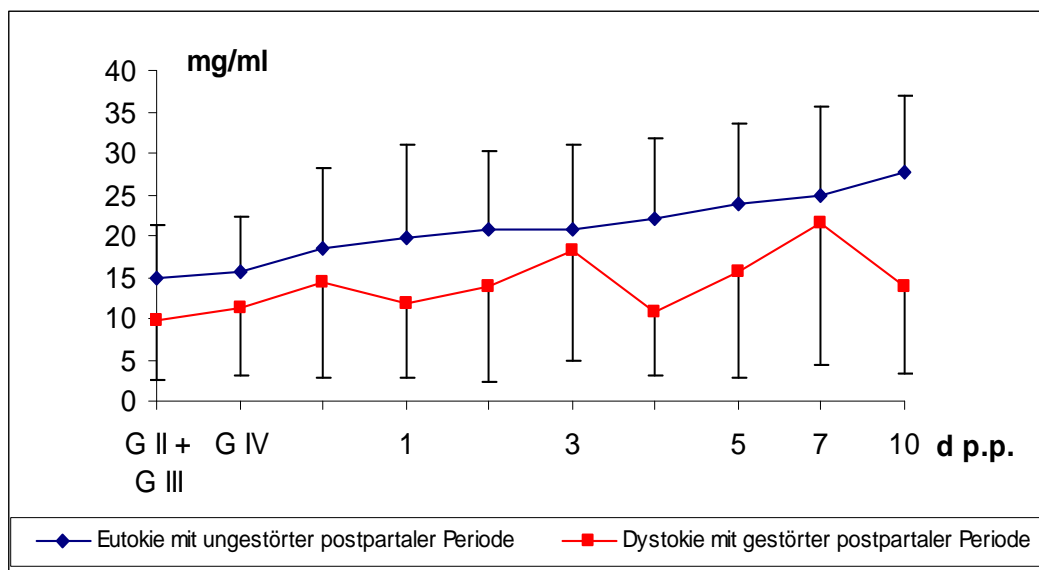


Die statistische Überprüfung auf signifikante Differenzen zwischen den Geburtsgruppen (KGH und Sectio caesarea) in denen Störungen in der postpartalen Periode auftraten erbrachte ebenso keinen nachweisbaren Einfluss der assistierten Geburt wie bei den Rindern mit ungestörter postpartaler Periode. Daher wurden auch diese beiden Gruppen zusammengefasst (*Grafik 43*).

Dabei stellte sich heraus, dass, wenn es bei Kühen mit Dystokie im Zeitraum von der Geburt bis zum zehnten Tag p.p. zur Entwicklung einer geburtsassoziierten Störung kommt, schon die IgG-Gehalte zu Beginn der assistierten Geburt ( $9,9 \pm 7,3$  mg/ml) signifikant erniedrigt waren, im Vergleich zu denen der Kontrolltiere ( $15,0 \pm 6,4$ ). Die Konzentrationsdifferenz betrug 34,0 % ( $p = 0,02$ ).

Weiterhin blieben die intravasalen IgG-Konzentrationen der Rinder nach Dystokie und Störungen in postpartaler Periode während des gesamten Untersuchungszeitraumes deutlich unterhalb der Referenzwerte der Kontrollgruppe ( $p < 0,05$ ).

Am zehnten Tag p.p. war ebenfalls eine Divergenz der Werte zwischen den Gruppen ersichtlich (Eutokie:  $27,7 \pm 9,2$  mg/ml; Dystokie:  $14,0 \pm 10,7$  mg/ml). Allerdings betrug der Konzentrationsunterschied 49,5 % und war, im Gegensatz zu den Tieren nach Dystokie mit ungestörter postpartaler Periode, statistisch zu sichern gewesen ( $p < 0,05$ ) (*Grafik 43*).



Grafik 43: Verlauf der intravasalen IgG-Konzentrationen von Milchrindern nach Eutokie und ungestörter postpartaler Periode (n = 18) sowie nach Dystokie (KGH und Sectio caesarea) (n = 18) mit gestörter postpartaler Periode (siehe Tabelle 3 Anhang)

G II = Beginn der Austreibungsphase bei den Rindern mit Eutokie

G III = Zeitpunkt des geburtshilflichen Eingreifens bei den Rindern mit Dystokie

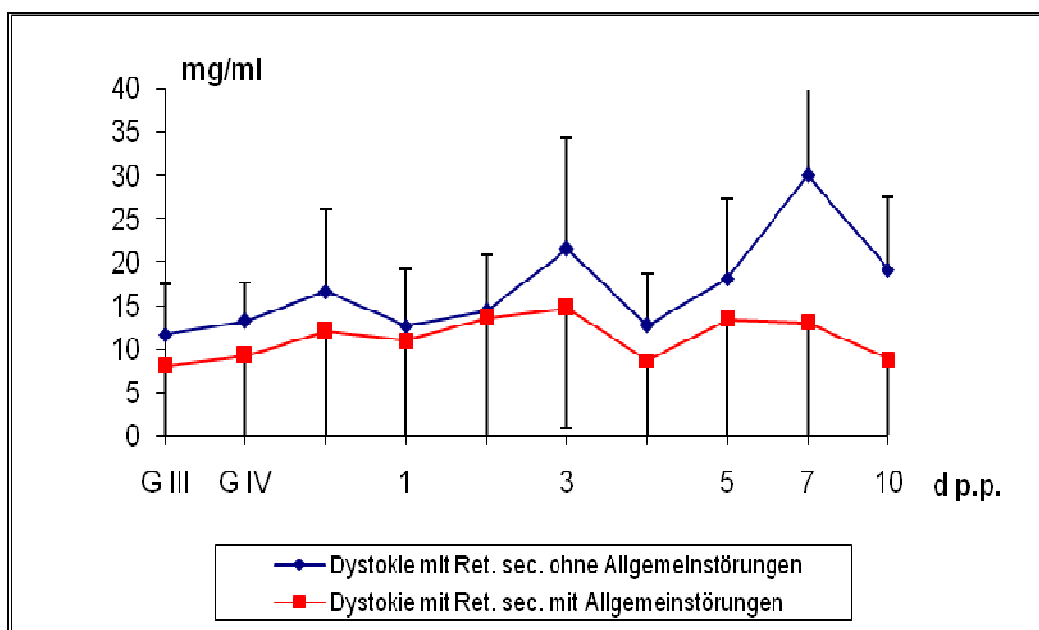
G IV = Ende der Austreibungsphase (Eutokie) / Extraktion der Frucht (Dystokie)

Auffällig war jedoch noch ein anderer Umstand. Bei Kühen mit Dystokie und folgender gestörter postpartaler Periode (n = 18) sind zwei Verlaufsformen hinsichtlich dieser Zeit nach dem Partus zu erkennen. Bei einem Teil der Tiere (n = 9) beschränkte sich die Störung p.p. auf die Retinierung der Secundinae ohne nennenswerten Allgemeinstörungen. Es fielen nur vereinzelt (n = 2) subklinische Euterentzündungen auf. Die anderen Probanden (n = 9) litten neben einer Retentio secundinarum zusätzlich an schwerwiegenden Beeinträchtigungen des Allgemeinbefindens, die teilweise hoch fieberhaft (puerperale Toxämie / Septikämie) und mit allgemeiner Apathie, Futterverweigerung, Milchrückgang, subakut larvierter Mastitis, Stoffwechselstörungen, Retinierung von Lochien oder manifester postpartaler Endometritis verbunden waren. In diesem Zusammenhang wurden diese zwei neuen Untergruppen des Probandenkollektives einer näheren Betrachtung unterzogen.

Dabei wurde ersichtlich, dass die intravasalen IgG-Konzentrationen bei den Tieren, die nach einer Dystokie neben einer Retentio secundinarum (Ret. sec.) auch schwere Störungen des Allgemeinbefindens zeigten, schon zum Geburtszeitpunkt (G III:  $8,1 \pm 8,5$  mg/ml) minimalste

IgG-Werte aufwiesen (*Grafik 44*). Diese waren gegenüber der Eutokiegruppe (G II:  $15,0 \pm 6,4$ ) um 46,0 % vermindert ( $p < 0,05$ ).

Im Gesamtverlauf war bei den Tieren, die nach einer komplikationsbehafteten Geburt eine gestörte postpartale Periode ohne schwerwiegenden Störungen des Allgemeinbefindens hatten (G III:  $11,6 \pm 5,9$  mg/ml) insgesamt ein verhaltener Anstieg der intravasalen IgG-Konzentrationen bis zum zehnten Tag p.p. ( $19,1 \pm 8,2$  mg/ml) zu verzeichnen. Die intravasalen Immunglobulingehalte der Probanden mit den lebensbedrohlichen, teilweise hoch fieberhaften postpartalen Störungen stagnierten dagegen bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes (IgG:  $8,8 \pm 10,8$ ) auf einem äußerst niedrigen Niveau, welches bereits im Stadium II der Geburt vorlag (*Grafik 44*). Die differente Entwicklung der IgG-Werte dieser beiden Gruppen konnte statistisch gesichert werden ( $p < 0,001$ ).



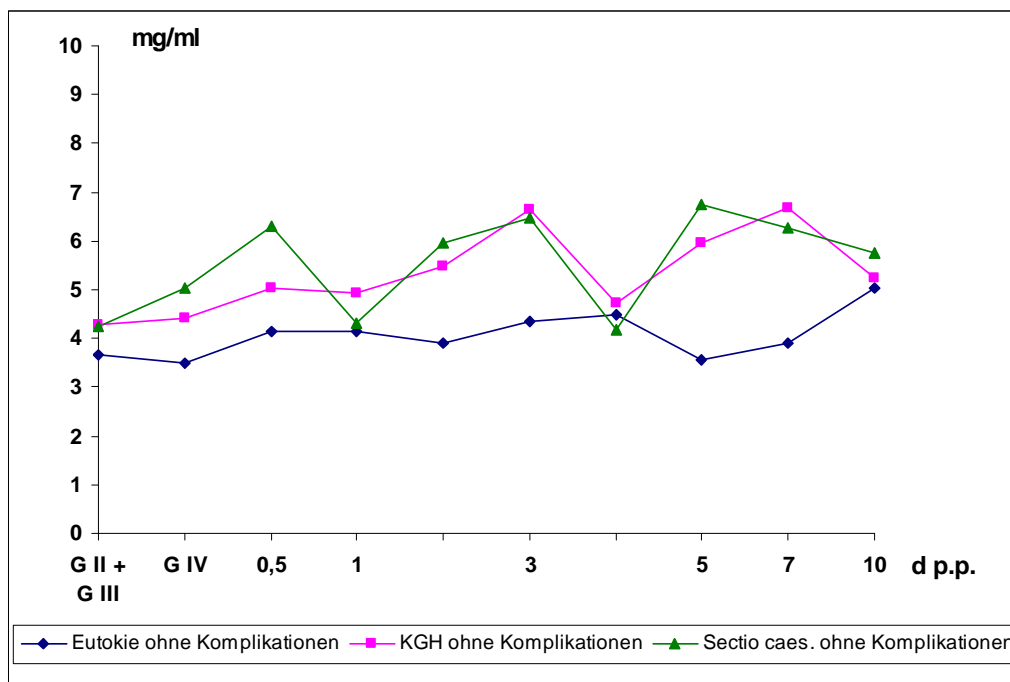
Grafik 44: Verlauf der intravasalen IgG-Konzentrationen von Milchrindern nach Dystokie und Retentio secundinarum (Ret. sec.) ohne ( $n = 9$ ) und mit ( $n = 9$ ) Störungen des Allgemeinbefindens in der postpartalen Periode (siehe Tabelle 6 und 7 Anhang)  
 G III = Zeitpunkt des geburtshilflichen Eingreifens  
 G IV = Ende der Extraktion der Frucht

Die Auswertung, ob Beziehungen zwischen postpartalen Störungen und den intravasalen IgM-Konzentrationen bestehen, erbrachte allerdings andere Resultate als dies beim IgG der Fall war.

Sowohl bei den Probanden nach KGH ( $4,3 \pm 1,7$  mg/ml) als auch nach Sectio caesarea ( $4,2 \pm 4,4$  mg/ml) mit ungestörter postpartaler Periode konnten schon unter der Geburt (G III), im Gegensatz zum IgG, geringfügig erhöhte intravasale IgM-Spiegel eruiert werden, im Vergleich zu den Gehalten der Kontrollgruppe (G II;  $3,7 \pm 2,5$  mg/ml) (*Grafik 45*). Es bestand jedoch keine statistisch signifikante Differenz ( $p > 0.05$ ).

Die postpartale Periode ist in beiden Geburtsgruppen mit assistierter Geburt und nachfolgender Komplikationsfreiheit bis zum zehnten Tag p.p. geprägt von wechselnden Zu- und Abnahmen der intravasalen IgM-Titer. Allerdings lagen die IgM-Gehalte in dieser Zeitspanne, entgegen denen des IgG, geringfügig über den Referenzwerten der Kontrolltiere nach Eutokie und ungestörter postpartaler Periode. Erst am zehnten Tag post partum nivellierten sich die IgM-Konzentrationen auf nahezu eine Ebene mit den Rindern der Kontrollgruppe (Eutokie:  $5,0 \pm 4,7$  mg/ml; KGH:  $5,2 \pm 2,5$  mg/ml; Sectio caesarea:  $5,8 \pm 5,2$  mg/ml) ( $p > 0,05$ ) (*Grafik 45*).

Wie aus den Daten ersichtlich, hatte die Art der geleisteten Geburtshilfe (KGH oder Sectio caesarea) dabei keinerlei Auswirkungen.



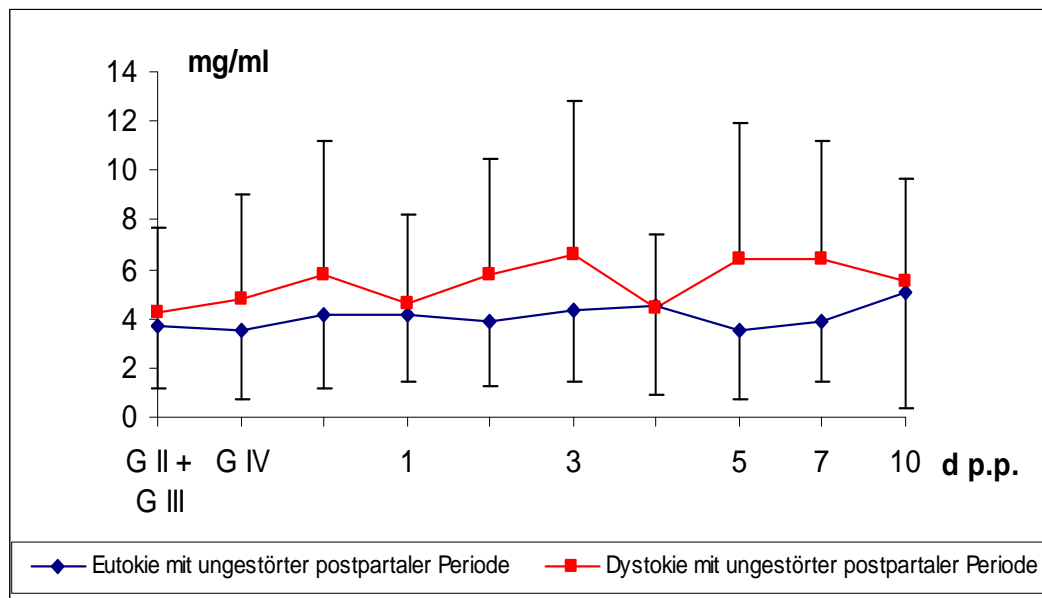
Grafik 45: Verlauf der intravasalen IgM-Konzentrationen von Milchrindern nach Eutokie und (n = 18), nach konservativer Geburtshilfe (KGH) (n = 8) oder nach Sectio caesarea (n = 10) mit ungestörter postpartaler Periode (siehe Tabelle 4 Anhang)

G II = Beginn der Austreibungsphase bei den Rindern mit Eutokie  
 G III = Zeitpunkt des geburtshilflichen Eingreifens bei den Rindern mit Dystokie  
 G IV = Ende der Austreibungsphase (Eutokie) / Extraktion der Frucht (Dystokie)

Aufgrund des Resultates, dass keine statistisch signifikanten Differenzen zwischen den beiden Geburtsgruppen (KGH und Sectio caesarea) ohne postpartale Störungen bestehen, wurden, in Analogie zum IgG, beide Gruppen zusammengezogen (*Grafik 46*).

Interessant ist, dass sich die Mittelwerte der intravasalen IgM-Gehalte bei den Rindern mit Dystokie und ungestörter postpartaler Periode, im Gegensatz zum IgG, schon zu Beginn des geburtshilflichen Eingreifens (G III:  $4,3 \pm 3,4$  mg/ml) und auch in der Folge bis zum zehnten Tag p.p. ( $5,5 \pm 4,1$  mg/ml) im oberen Referenzbereich der Kontrolltiere (G II:  $3,7 \pm 2,5$  mg/ml; zehnter Tag p.p.:  $5,0 \pm 4,7$  mg/ml) bewegten. Lediglich am Ende des Untersuchungszeitraumes (10. Tag p.p.) war eine Angleichung der Werte zu erkennen (*Grafik 46*). Trotz der sichtbaren Konzentrationsunterschiede zwischen den Kühen mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode und denen mit Dystokie und komplikationsfreier Zeit nach

dem Partus, ergab die statistische Überprüfung insgesamt keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Probandenkollektiven ( $p > 0,05$ ).



Grafik 46: Verlauf der intravasalen IgM-Konzentrationen von Milchrindern nach Eutokie ( $n = 18$ ) und nach Dystokie (KGH und Sectio caesarea) ( $n = 18$ ) mit ungestörter postpartaler Periode (siehe Tabelle 3 Anhang)

G II = Beginn der Austreibungsphase bei den Rindern mit Eutokie

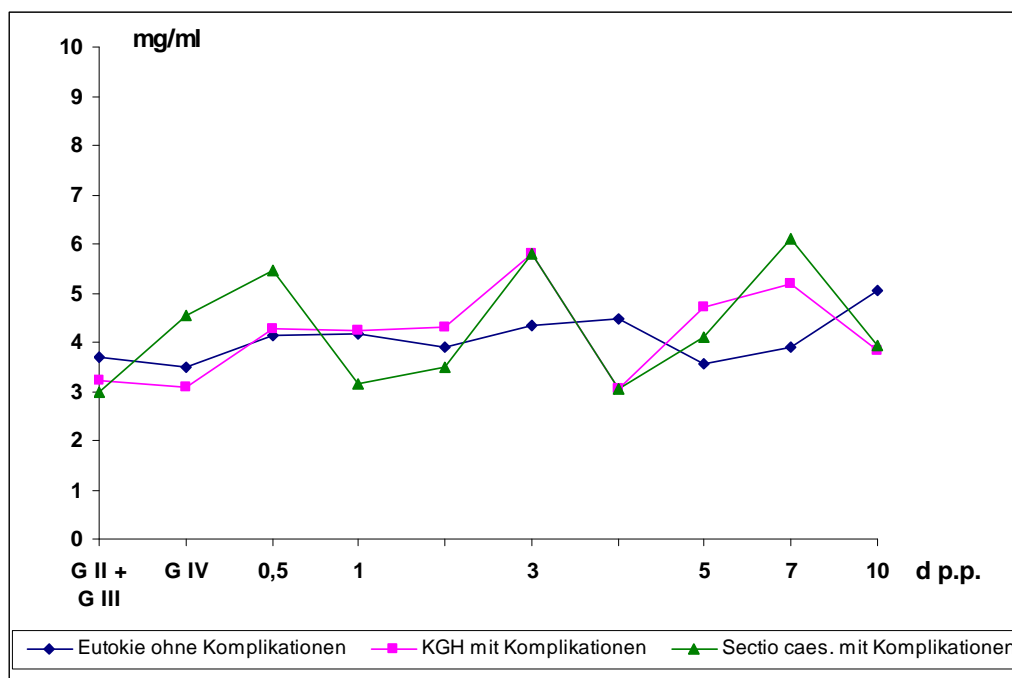
G III = Zeitpunkt des geburtshilflichen Eingreifens bei den Rindern mit Dystokie

G IV = Ende der Austreibungsphase (Eutokie) / Extraktion der Frucht (Dystokie)

Im Weiteren sind die zwei Gruppen mit assistierter Geburt (KGH oder Sectio caesarea), bei denen eine Störung in der postpartalen Periode auftrat einer näheren Betrachtung unterzogen worden (*Grafik 47*).

Die Werte der intravasalen IgM-Konzentrationen aller Tiere nach Dystokie mit folgenden Störungen lagen, in Analogie zum IgG, im postpartalen Verlauf während des gesamten Beprobungszeitraumes bis zum zehnten Tag p.p. unter den IgM-Gehalten der Rinder nach Dystokie mit komplikationsfreier postpartaler Periode. Dieses Phänomen war unabhängig von der Art der geleisteten Geburtshilfe (KGH oder Sectio caesarea) zu beobachten. Allerdings konnten diese Konzentrationsunterschiede, im Gegensatz zum IgG, nicht statistisch gesichert werden ( $p > 0,05$ ).

Weiterhin zeigte sich bei den Tieren nach assistierter Geburt und gestörter postpartaler Periode im Intervall vom Partus bis zum zehnten Tag p.p. ein kontinuierlicher Wechsel zwischen Konzentrationserhöhungen und -erniedrigungen, die sich zwar insgesamt unterhalb des Levels der Tiere nach Dystokie und ungestörter postpartaler Periode befanden, wie dies in gleicher Weise beim IgG der Fall war. Allerdings bewegten sich die IgM-Titer bei diesen Tieren mit Störungen in der postpartalen Phase, unabhängig von der Form der assistierten Geburt, im physiologischen Bereich der Kontrollgruppe ( $p < 0,05$ ), im Gegensatz zu den erniedrigten Gehalten beim IgG (Grafik 47).



Grafik 47: Verlauf der intravasalen IgM-Konzentrationen von Milchrindern nach Eutokie und ungestörter postpartaler Periode ( $n = 18$ ) sowie nach konservativer Geburtshilfe (KGH) ( $n = 8$ ) oder nach Sectio caesarea ( $n = 10$ ) mit gestörter postpartaler Periode (siehe Tabelle 4 Anhang)

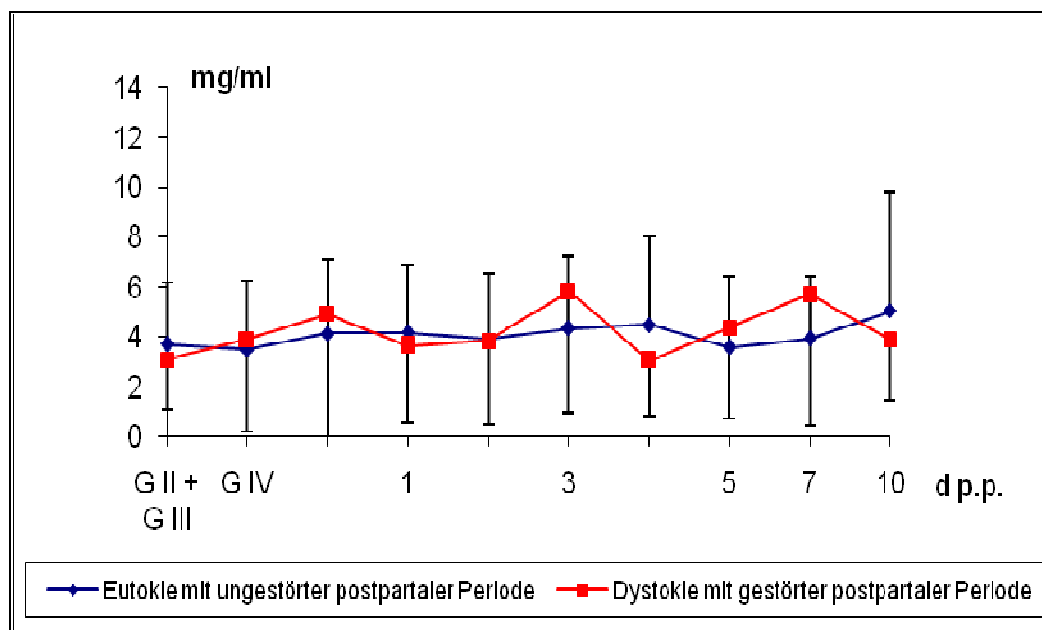
G II = Beginn der Austreibungsphase bei den Rindern mit Eutokie

G III = Zeitpunkt des geburtshilflichen Eingreifens bei den Rindern mit Dystokie

G IV = Ende der Austreibungsphase (Eutokie) / Extraktion der Frucht (Dystokie)

Wie aus den Ergebnissen ersichtlich konnten beim Vergleich der IgM-Konzentrationen innerhalb der Geburtsgruppen (KGH und Sectio caesarea) keine signifikanten Differenzen ermittelt werden, weshalb diese Probandenkollektive, wie auch beim IgG, zusammengefasst wurden (*Grafik 48*).

Dabei stellte sich heraus, dass sich die intravasalen IgM-Gehalte der Probanden, die nicht nur an einer komplikationsbehafteten Geburt litten, sondern zusätzlich noch eine Störung in der postpartalen Periode ausbildeten, im gesamten Untersuchungszeitraum vom Partus (G III:  $3,1 \pm 2,0$  mg/ml) bis zum zehnten Tag p.p. ( $3,9 \pm 2,4$  mg/ml) durchschnittliche IgM-Titer aufwiesen, die sich im Konzentrationsbereich der arithmetischen Mittelwerte der Kontrollgruppe befanden (G II:  $3,7 \pm 2,5$  mg/ml; zehnter Tag p.p.:  $5,0 \pm 4,7$  mg/ml), und nicht darunter, wie dies beim IgG der Fall war (*Grafik 48*). Es gab keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen diesen Gruppen ( $p > 0,05$ ).



Grafik 48: Verlauf der intravasalen IgM-Konzentrationen von Milchrindern nach Eutokie und ungestörter postpartaler Periode ( $n = 18$ ) sowie nach Dystokie (KGH und Sectio caesarea) ( $n = 18$ ) mit gestörter postpartaler Periode (siehe Tabelle 3 Anhang)

G II = Beginn der Austreibungsphase bei den Rindern mit Eutokie

G III = Zeitpunkt des geburtshilflichen Eingreifens bei den Rindern mit Dystokie

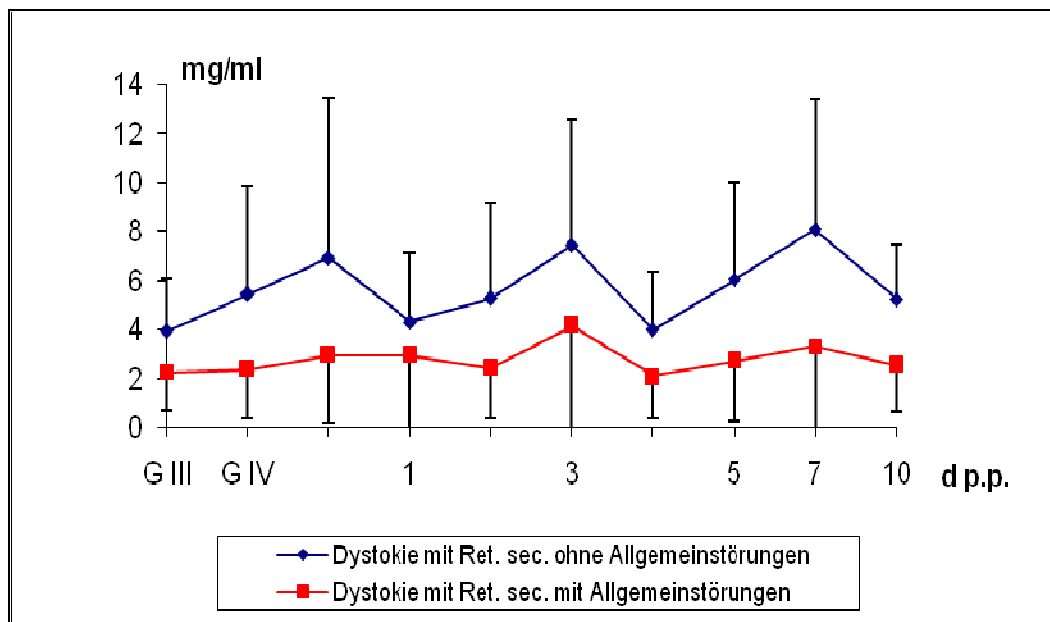
G IV = Ende der Austreibungsphase (Eutokie) / Extraktion der Frucht (Dystokie)



In Analogie zum IgG wurde die Probandengruppe mit Dystokie und gestörter postpartaler Periode aufgrund des Schweregrades des Verlaufes der Zeit nach dem Partus ebenfalls in zwei Untergruppen mit ( $n = 9$ ) und ohne ( $n = 9$ ) schwerwiegende Allgemeinstörungen aufgeteilt und einer näheren differenzierten Betrachtung hinsichtlich des IgM's unterzogen.

Es konnte gezeigt werden, dass bei den Tieren mit Dystokie, Retentio secundinarum und starker Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens schon zu Beginn der Austreibungsphase die niedrigsten IgM-Gehalte im Blut zu messen waren ( $2,3 \pm 1,6$  mg/ml), wie dies auch beim IgG der Fall war (*Grafik 49*). Die Konzentrationsdifferenz zur Kontrollgruppe (G II:  $3,7 \pm 2,5$ ) betrug 37,8 % ( $p < 0,05$ ).

Der Gesamtverlauf der intravasalen IgM-Titer des Probandenkollektives mit Dystokie und Retentio secundinarum ohne weitere Störungen bis zum zehnten Tag p.p. war geprägt von wechselnden Zu- und Abnahmen. Insgesamt verharrten die IgM-Werte aber in einem Konzentrationsbereich zwischen 4,0 und 7,5 mg/ml. Das gleiche Phänomen war zwar auch bei den Kühen zu beobachten, die nicht nur an einer Retinierung der Secundinae sondern zusätzlich noch an schwerwiegenden Störungen des Allgemeinbefindens litten. Allerdings stagnierten deren intravasale IgM-Gehalte vom Partus bis zum zehnten Tag p.p. auf einem niedrigeren Level zwischen 2,0 und 4,0 mg/ml (*Grafik 49*). Trotz der sichtbaren Unterschiede zwischen den Gruppen konnten diese nicht statistisch gesichert werden ( $p = 0,89$ ).



Grafik 49: Verlauf der intravasalen IgM-Konzentrationen von Milchrindern nach Dystokie und Retentio secundinarum (Ret. sec.) ohne (n = 9) und mit (n = 9) Störungen des Allgemeinbefindens in der postpartalen Periode (siehe Tabelle 6 und 7 Anhang)  
 G III = Zeitpunkt des geburtshilflichen Eingreifens  
 G IV = Ende der Extraktion der Frucht

#### 4.9.3 Beziehungen zwischen intrapartalen intravasalen IgG-, IgM- sowie Kortisolkonzentrationen und postpartalen Störungen

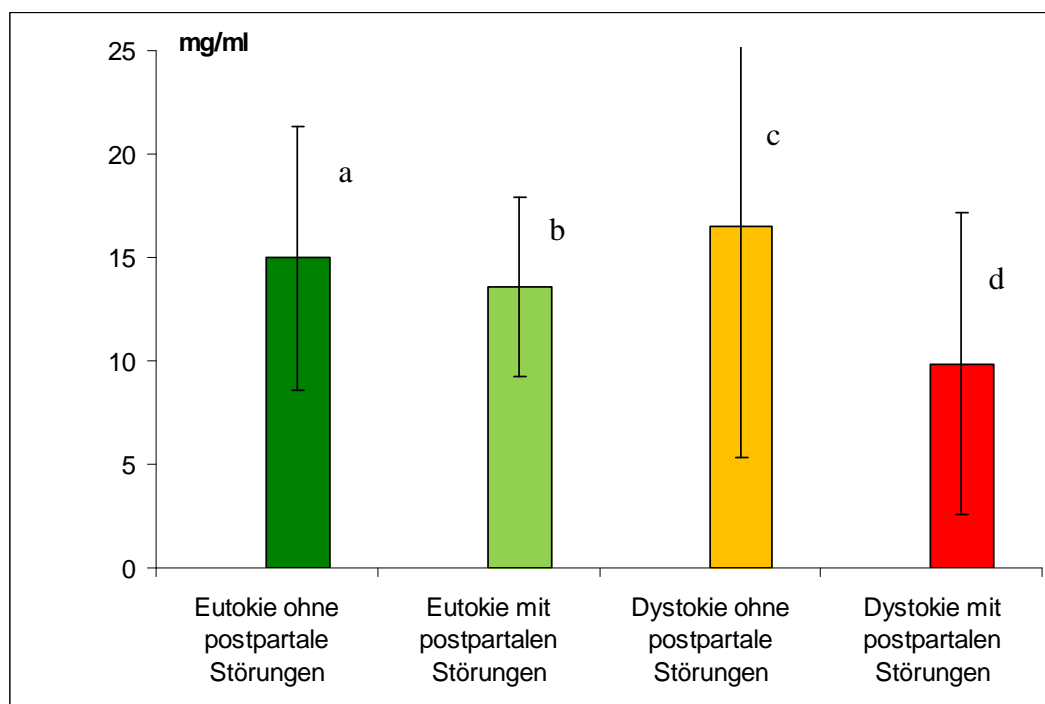
Da bei den bisherigen Auswertungen herausgefunden werden konnte, dass bereits unter dem Geburtsgeschehen erhebliche intravasale Konzentrationsunterschiede der Immunglobuline (IgG und IgM) bestehen, wurde diese Fragestellung einer differenzierten Betrachtung unterzogen. Weiterhin war zu eruieren, ob es bereits zu diesem Zeitpunkt Wechselbeziehungen zwischen dem späteren Auftreten einer postpartalen Störung (Mastitis, Retentio secundinarum, postpartale Septikämie und / oder eine postpartale Endomyometritis) und den intrapartalen IgG-, IgM- und Kortisolgehalten gibt.

Die durchschnittliche intravasale IgG-Konzentration zu Beginn der Austreibungsphase (G II) der drei Kühe mit Eutokie, welche im Anschluss daran eine Störung in der postpartalen

Periode aufwiesen, war mit  $13,6 \pm 4,3$  mg/ml nahezu identisch zum Wert der Tiere mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode ( $15,0 \pm 6,4$  mg/ml;  $p > 0,05$ ) (*Grafik 50*).

Ebenso verhielt es sich im Vergleich mit den Rindern mit Dystokie zum Zeitpunkt G III, wenn deren postpartale Periode komplikationsfrei blieb. Der arithmetische Mittelwert lag mit  $16,5 \pm 11,1$  mg/ml nur unwesentlich über dem intrapartalen (G II) Gehalt der Kontrolltiere ( $15,0 \pm 6,4$  mg/ml;  $p > 0,05$ ).

Hochinteressant ist jedoch, dass die Probanden, welche nach dem Partus an einem infektiös-entzündlichen Krankheitszustand litten, schon mit einem deutlich erniedrigten intravasalen Immunglobulingehalt von  $9,9 \pm 7,3$  mg/ml in die Geburt (G III) kamen (*Grafik 50*). Diese Differenz war statistisch zu untermauern ( $p = 0,02$ ).

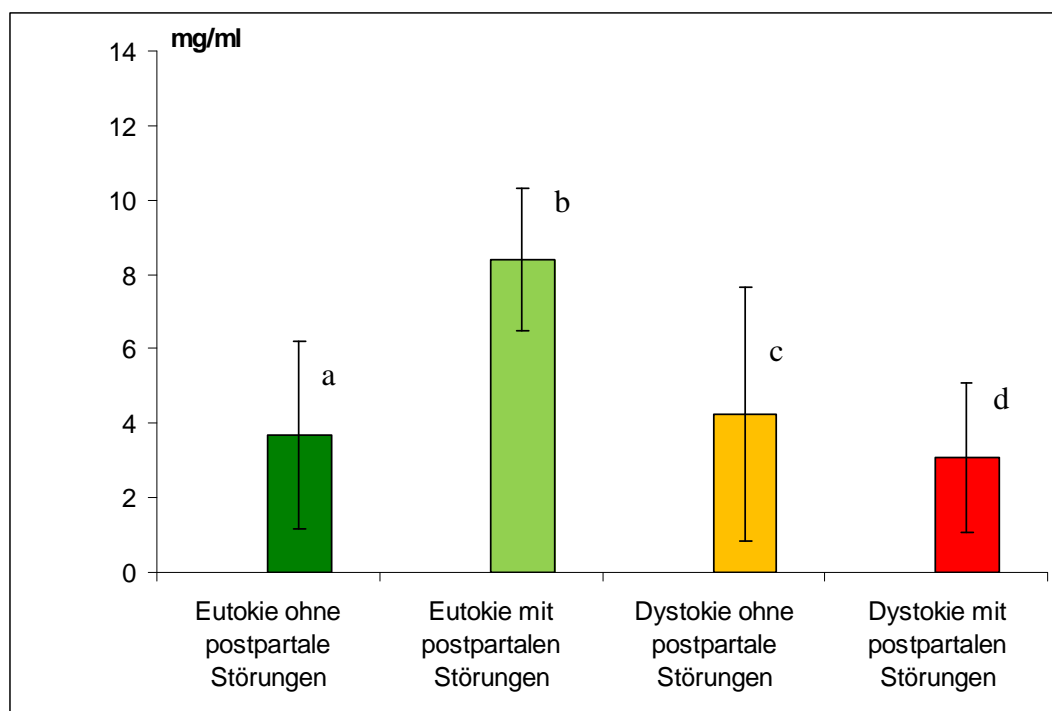


**Grafik 50:** Intravasale IgG-Konzentrationen sub partu (G II) von Milchrindern nach Eutokie und ungestörter postpartaler Periode ( $n = 18$ ) im Vergleich zu solchen nach Eutokie (G II), die später eine postpartale Störung entwickelten ( $n = 3$ ) sowie im Vergleich zu Tieren nach Dystokie (G III) ohne ( $n = 18$ ) und mit ( $n = 18$ ) gestörter postpartaler Periode (siehe Tabelle 3 Anhang)

a : b	$p > 0,05$	a : c	$p > 0,05$
a : d	$p = 0,02$	c : d	$p < 0,01$

Im Gegensatz dazu stehen die durchschnittlichen intravasalen IgM-Konzentrationen intra partum (G II / G III). Die arithmetischen IgM-Gehalte innerhalb der Gruppen mit den Tieren nach Eutokie und Dystokie mit komplikationsfreier postpartaler Periode als auch die Rinder mit Dystokie und gestörter postpartaler Periode hatten intrapartale Werte, die in einem relativ engen Bereich zwischen 3,7 mg/ml und 4,3 mg/ml lagen und nicht signifikant different waren ( $p > 0,05$ ) (*Grafik 51*).

Lediglich die Kühe mit Eutokie, welche eine infektiöse Störung in der postpartalen Periode aufwiesen, hatten einen deutlich höheren intrapartalen IgM-Titer von  $8,4 \pm 1,9$  mg/ml (*Grafik 51*). Allerdings ließ sich dieser aufgrund der geringen Tierzahl ( $n = 3$ ) nicht statistisch sichern.



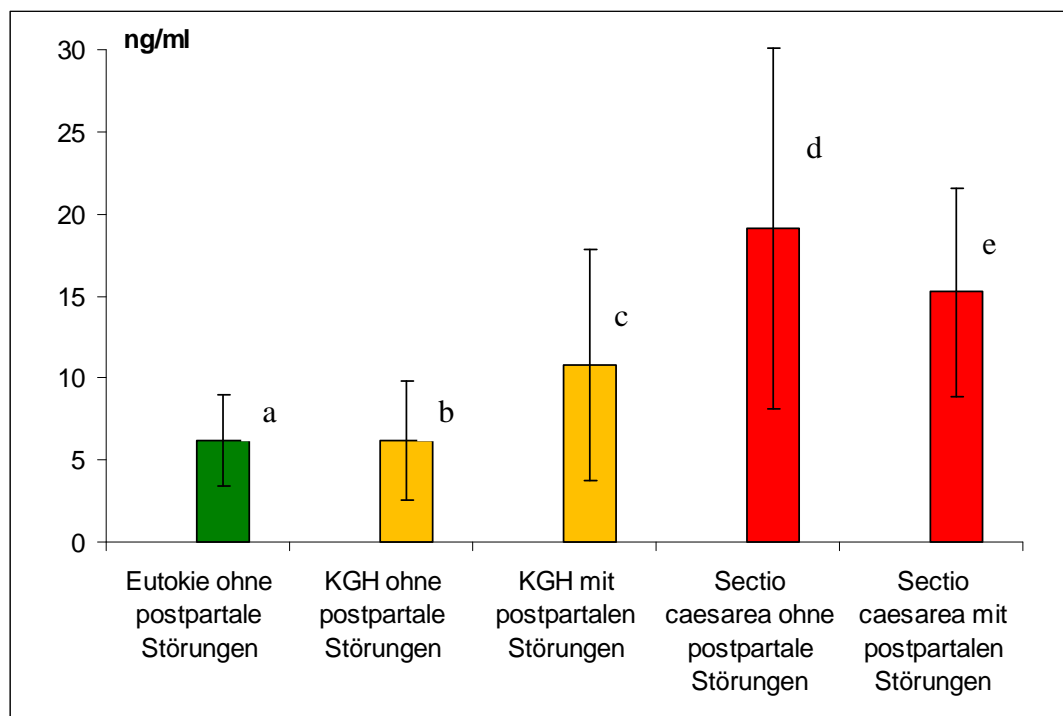
**Grafik 51:** Intravasale IgM-Konzentrationen sub partu (G II) von Milchrindern nach Eutokie und ungestörter postpartaler Periode ( $n = 18$ ) im Vergleich zu solchen nach Eutokie (G II), die später eine postpartale Störung entwickelten ( $n = 3$ ) sowie im Vergleich zu Tieren nach Dystokie (G III) ohne ( $n = 18$ ) und mit ( $n = 18$ ) gestörter postpartaler Periode (siehe Tabelle 4 Anhang)

a : b	$p > 0,05$	a : c	$p > 0,05$
a : d	$p > 0,05$	c : d	$p > 0,05$

Ein etwas anderes Bild ergab sich bei der Auswertung der durchschnittlichen intravasalen Kortisolgehalte zum Zeitpunkt G II (Eutokie) respektive G III (Dystokie). Hier wurde die Auswertung, im Gegensatz zum IgG und IGM, in Abhängigkeit von der Geburtsgruppe (Eutokie, KGH, Sectio caesarea) und dem Auftreten einer infektiösen postpartalen Krankheitserscheinung ausgewertet. Hierzu wurde das Probandenkollektiv mit KGH oder Sectio caesarea von vorneherein jeweils in zwei Untergruppen ohne und mit komplikationsbehafteter postpartaler Periode unterteilt.

Die Probanden der Kontrollgruppe wiesen mit einer intrapartalen (G II) Kortisolkonzentration von  $6,2 \pm 2,8$  ng/ml den gleichen Durchschnittswert auf wie die Rinder mit konservativer Geburtshilfe (KGH) und ungestörter postpartaler Periode (G III;  $6,2 \pm 3,6$  ng/ml). Jene Kühe, die nach einer konservativen Geburtshilfe eine Störung in der postpartalen Periode entwickelten, hatten mit  $10,8 \pm 7,0$  ng/ml schon unter dem Geburtsgeschehen (G III) signifikant höhere Kortisollevel ( $p < 0,05$ ), obwohl der Geburtsvorgang gleich war. Im Vergleich zu den Kontrolltieren lag dieser Gehalt um 73,4 % höher (*Grafik 52*).

Ein Maximum der arithmetischen Kortisolkonzentration sub partu (G III) trat bei den Tieren auf, bei denen die Geburt nur mittels einer Sectio caesarea beendet werden konnte. Interessant dabei war, dass sowohl die Probanden, welche eine ungestörte postpartale Periode hatten als auch die mit Komplikationen deutlich höhere intrapartale Kortisolwerte aufzeigten, die statistisch zu sichern gewesen waren ( $p < 0,05$ ), unabhängig von der Entwicklung einer infektiösen postpartalen Störung. Im Gegensatz zur Gruppe der KGH, konnte die Höchstkonzentration an Kortisol bei den Probanden mit Schnittentbindung und ungestörter postpartaler Periode nachgewiesen werden ( $19,1 \pm 11,0$  ng/ml). Die Rinder nach Kaiserschnitt, welche eine komplikationsbehaftete postpartale Periode hatten, lagen mit  $15,2 \pm 6,3$  ng/ml nur geringfügig darunter (*Grafik 52*).



Grafik 52: Intravasale Kortisolkonzentrationen sub partu (G II) von Milchrindern nach

Eutokie und ungestörter postpartaler Periode (n = 18) im Vergleich zu denen nach konservativer Geburtshilfe (KGH) und ungestörter (n = 8) sowie gestörter (n = 8) postpartaler Periode oder nach Sectio caesarea ohne (n = 10) und mit (n = 10) Störung in der postpartalen Periode zum Zeitpunkt G III (siehe Tabelle 5 Anhang)

a : b      p > 0,05

a : c      p < 0,05

a : d      p < 0,01

a : e      p < 0,01

c : d      p < 0,05

d : e      p > 0,05

## 5. Diskussion

So wichtig das Problem des Immunstatus beim Rind, gerade im peripartalen Zeitraum, erscheint, wundert es doch, dass die sich dazu äßernde wissenschaftliche Literatur mit verwend- und diskussionsbaren Daten nicht sehr umfangreich ist. Als erster beschrieb Larson 1958 eine Abnahme der Konzentrationen der  $\gamma_1$ - und  $\beta_2$ -Globuline im Serum von der sechsten Woche a.p. bis zum Partus. Jedoch konnten durch die von ihm angewandte Methodik der Gelelektrophorese lediglich Proteinfractionen gemessen werden, ohne diese näher bestimmen zu können.

Auf dieser Basis aufbauend, gab es einige Versuche, eine Quantifizierung des intravasalen Immunglobulingehaltes vorzunehmen. Dies war Gegenstand mehrerer Publikationen am Ende des vergangenen Jahrhunderts, wobei sehr differente IgG-Gehalte im durchschnittlichen Bereich von 18,9 mg/ml bis 30,0 mg/ml und IgM-Werte von 2,6 mg/ml bis 8,6 mg/ml im bovinen Serum angegeben wurden (Klaus et al., 1969; Curtain et al., 1971; Brandon et al., 1971; Duncan et al., 1972; Butler, 1973; Norman et al., 1981). Diese begründen sich vor allem dadurch, dass deren Messungen unabhängig vom Leistungsstadium innerhalb der Reproduktionsperiode sowie mit unterschiedlichen Methoden (Radioimmunoassay, sRid; keine Angaben zur Methodik bei Butler, 1973) durchgeführt worden sind.

Die von diesen Arbeitsgruppen publizierten intravasalen IgG- und IgM-Konzentrationen sind zwar hilfreich, geben aber keine Auskünfte darüber, inwieweit die unterschiedlichen Reproduktionsabschnitte Einfluss auf den humoralen Immunglobulinstatus nehmen. In der Fachliteratur wird nämlich die allgemeine Meinung vertreten, dass die überdurchschnittlich hohe Inzidenz an geburtsassoziierten Krankheiten des Milchrindes im peripartalen Zeitraum in Zusammenhang mit einer Depression des Immunsystems stehe, wobei dies nicht immer begründet, sondern nur als globale Ansicht geäußert wird (Gunnink, 1984; Goff und Horst, 1997; Lewis, 1997; Mallard et al., 1998). Ansätze, diese Vermutung durch Fakten zu sichern, gab es schon in den Dekaden 1960 bis 1990 (Bostedt und Berchtold, 1968; Kehrli, 1989). Bereits Bostedt und Berchtold (1968) gaben an, dass die humoralen Abwehrmechanismen des Milchrindes sub partu offenbar eine Schwächephase durchlaufen und begründeten dies damals damit, dass Kühe durch das Geburtsgeschehen unter einer Stresseinwirkung zu stehen scheinen. Sie leiteten dies aus der signifikanten Reduktion eosinophiler Granulozyten von

acht Stunden a.p. mit  $292/\text{mm}^3$  auf  $126/\text{mm}^3$  während der Austreibungsphase und weiter auf  $104/\text{mm}^3$  drei bis fünf Stunden p.p. ab. Die Dauer der Eosinopenie variierte dabei zwischen 12 und 24 Stunden. Da bei mit Glukokortikoid behandelten Kontrolltieren außerhalb des peripartalen Bereiches das gleiche Phänomen der Eosinophilenreduktion zu beobachten war, allerdings mit einer Zeitverschiebung von 24 Stunden, kamen die Autoren zu dem Rückschluss, dass die Abnahme der eosinophilen Granulozyten einer erhöhten peripartalen Glukokortikoidkonzentration zuzuschreiben sei. Eine Bestätigung der von Bostedt und Berchtold (1968) geäußerten Annahme, dass sub partu der Kortisollevel erhöht sein muss, erfolgte durch die Arbeiten von Hoffmann et al. (1973) und Hudson et al. (1975 a und b). Weitere Forschungsteams sahen dabei einen Zusammenhang zwischen dem peripartal erhöhten Kortisolspiegel und einer daraus resultierenden temporären Immunsuppression in der Zeit um die Geburt (Comline et al., 1974; Hudson et al., 1975b; Heuwieser et al., 1987; Thun et al., 1994), welche mit einer erhöhten Krankheitsinzidenz innerhalb dieses Abschnittes in Beziehung stehen könnte.

Die direkte Charakterisierung der Immunlage beim Milchrind in dieser kritischen Periode war jedoch erst in jüngerer Zeit Gegenstand zweier Studien (Detilleux et al., 1995; Franklin et al., 2005). Diese beiden Arbeitsgruppen widmeten sich der Bestimmung des tatsächlichen humoralen Immunglobulinstatus, wobei besonderes Augenmerk auf das Stadium des letzten Drittels der Gestation sowie auf die peripartale Region gelegt wurde. Gleichgerichtet ist in beiden Publikationen die Beschreibung eines präpartalen Abfalles der IgG<sub>1</sub>-Konzentration. Allerdings gibt es in diesen Veröffentlichungen unterschiedliche Resultate in Bezug auf die absoluten IgG<sub>1</sub>-Werte sowie zum zeitlichen Ausgangspunkt des antepartalen IgG<sub>1</sub>-Abfalles. Während Detilleux et al. (1995) eine Reduktion des humoralen IgG<sub>1</sub>-Levels um 62 % (von circa 6 auf 2 mg/ml) von der fünften Woche a.p. bis zum Partus feststellten, beschrieben Franklin et al. (2005) einen kontinuierlichen Abfall der IgG<sub>1</sub>-Konzentration von der vierten Woche a.p. bis zur Geburt hin (von  $10,2 \pm 0,9$  mg/ml auf  $3,3 \pm 0,7$  mg/ml intra partum). Diese differenten Festlegungen stehen sicherlich mit dem Beginn der Studien in der fünften respektive vierten Woche a.p. in Zusammenhang. Bisher ist also noch nicht bekannt, zu welchem Zeitpunkt genau diese Reduktion eintritt.

So wichtig die angegebenen Wertveränderungen sind, müssen jedoch diese Ergebnisse kritisch betrachtet werden. Zum einen führten Franklin et al. (2005) ihre Studie an 30 Rindern



der Rasse Holstein Friesian und 20 Rindern der Rasse Jersey durch, wobei beide Rassen in der Versuchs- und Kontrollgruppe gemischt waren und keine differenzierte Auswertung in Bezug auf deren Rassenzugehörigkeit vorgenommen wurde. Zum anderen war Hauptziel dieser Arbeit, die unterstützende Wirkung der Mannan-Oligosaccharide (MOS) auf das Immunsystem der Rinder in den letzten drei Wochen der Trockenstehperiode zu evaluieren. Um die von ihnen gewählte Fragestellung zu quantifizieren, wurden sowohl die Rinder der Kontroll- als auch der Versuchsgruppe in der vierten und zweiten Woche a.p. mit Vakzinen gegen Rotaviren, Coronaviren und E. coli geimpft. So war es also nicht der vorrangige Gegenstand dieser Publikation, die originären humoralen Immunglobulinkonzentrationen im peripartalen Zeitraum zu bestimmen und deren Auswirkung auf die maternale Krankheitsinzidenz zu überprüfen. Deshalb ist es schwierig, die angegebenen humoralen Immunglobulinkonzentrationen als Diskussionsgrundlage für die eigene Studie zu nutzen, da sie infolge der Impfung keine direkten, biologisch vorgegebenen Referenzwerte darstellen können.

Bei der zweiten themenrelevanten Arbeit muss bedacht werden, dass Dettloux et al. (1995) zwar ein großes Probandenkollektiv mit 137 Rindern der Rasse Holstein Friesian für ihre Studie nutzten, jedoch sollte in erster Linie der Frage nach einer genetisch determinierten Differenz der Immunfunktion bei verschiedenen Zuchtlinien von milchbetonten Rinderrassen nachgegangen werden. Zudem bestimmten sie, in Analogie zu Franklin et al. (2005), die humoralen IgG<sub>1</sub>-, IgG<sub>2</sub>- und IgM-Konzentrationen mittels radialer Immundiffusion. Diese angewandte Methodik der Immunglobulinbestimmung (sRID) ist mit nicht zu vernachlässigenden Ungenauigkeiten, besonders im niedrigen Konzentrationsbereich, in dem sich die intravasalen Immunglobuline bewegen, belegt (Gränzer, 1986). Sie ist den in der vorgelegten Arbeit verwendeten kompetitiven ELISA's deutlich unterlegen (Bender, 2004; Bender und Bostedt, 2008).

Aufgrund der in der Klinik, in Zusammenarbeit mit dem Institut für Biochemie und Endokrinologie des Fachbereiches Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen, entwickelten und evaluierten ELISA's, werden neue Daten vorgelegt, welche die Immunitätslage in der Trockenstehphase, sub partu und in der postpartalen Periode besser quantifizieren lassen. Der Nachteil ist, dass durch dieses neue Verfahren nur die Gesamtkonzentration an IgG bestimmt werden kann. Eine Differenzierung zwischen IgG<sub>1</sub> und

IgG<sub>2</sub> ist momentan noch nicht möglich. Dieses Manko tritt aber etwas in den Hintergrund, weil das IgG<sub>1</sub>, nach den Untersuchungsergebnissen mehrerer Arbeitsgruppen, nur etwa 60 % des Gesamtanteils an IgG im Blut ausmacht. Die restlichen 40 % sind IgG<sub>2</sub>-Moleküle (Brandon et al., 1971; Curtain et al., 1971; Butler, 1973). Ziel der vorgelegten Studie war es, zuerst einmal fraktionsunabhängig die Gesamtsituation an Immunglobulin G und auch IgM im Zeitraum vom letzten Trimester der Gravidität bis zur vierten Woche p.p. zu erfassen, um so Aussagen über den humoralen Immunstatus des Milchrindes in dieser Leistungs- und Reproduktionsphase machen zu können.

Als erstes bemerkenswertes Resultat der vorgelegten Studie ist anzugeben, dass es zu einem signifikanten Abfall der humoralen IgG-Werte bereits vom Zeitpunkt der Trockenstellung (achte Woche a.p.) bis zum Partus kommt (von  $36,8 \pm 11,6$  mg/ml auf  $15,0 \pm 6,4$  mg/ml;  $p < 0,001$ ). Ein Vergleich dieses Ergebnisses mit den gleichgerichteten Resultaten der Untersuchungen von Detilleux et al. (1995) und Franklin et al. (2005) lässt den Schluss zu, dass der in allen drei Untersuchungen festgestellte präpartale Abfall der intravasalen IgG-Konzentrationen offenbar ein grundsätzliches Phänomen des Milchrindes darzustellen scheint. Dies steht konträr zu der Annahme von Bostedt und Berchtold (1968), Comline et al. (1974), Hudson et al. (1975 b), Heuwieser et al. (1987) und Thun et al. (1994). Nach deren Meinung soll erst unmittelbar vor dem Geburtsgeschehen, im Kontext zum rapiden Anstieg des Kortisons, eine Depression der Immunitätslage eintreten.

Es wurde schon erwähnt, dass jedoch gewisse Differenzen hinsichtlich des Beginns der humoralen Immunglobulinreduktion bestehen. Durch die vorliegende Dissertationsschrift ließ sich belegen, dass es bei Milchkühen ab dem Ende des siebten Monates der Gravidität zu einer kontinuierlichen Reduktion der intravasalen IgG-Titer kommt, die bis in den Geburtsabschnitt hinein andauert. Es ist also offenbar nicht so, dass dies erst von der fünften (Detilleux et al., 1995) respektive der vierten Woche a.p. (Franklin et al., 2005) an geschieht. Auch gibt es Unterschiede zwischen den zitierten Arbeiten und der eigenen Untersuchung hinsichtlich der Konzentrationsangabe. Mit Hilfe des ELISA's wurde in dieser Studie ein intravasaler IgG-Gehalt von  $36,8 \pm 11,6$  mg/ml in der achten Woche a.p. ermittelt, der bereits bis zur vierten Woche a.p. auf  $29,0 \pm 11,6$  mg/ml abgefallen war. Unter der Voraussetzung, dass das IgG<sub>1</sub> etwa 60 % der Gesamt-IgG-Konzentration im Blut ausmacht (Brandon et al., 1971; Curtain et al., 1971; Butler, 1973), würde dies für die eigene Arbeit einen angenommenen IgG<sub>1</sub>-Gehalt von 17,4 mg/ml bedeuten. Dieser Wert für die Periode vier

Wochen a.p. liegt dennoch deutlich über den von Detilleux et al. (1995; ca. 6 mg/ml) und Franklin et al. (2005;  $10,2 \pm 0,9$  mg/ml) publizierten IgG<sub>1</sub>-Titern für diese Zeit. Gleichmaßen differierten auch die aufgezeigten absoluten Konzentrationsabnahmen bis zum Partus dieser Veröffentlichungen mit den eigenen Resultaten. Während Detilleux et al. (1995) eine ungenau bezifferte IgG<sub>1</sub>-Reduktion von „circa 6 mg/ml“ (fünfte Woche a.p.) auf 2 mg/ml i.p. (Gesamtreduktionsrate: 4 mg/ml) angaben, publizierten Franklin et al. (2005) solch eine von  $10,2 \pm 0,9$  mg/ml (vierte Woche a.p.) auf  $3,3 \pm 0,7$  mg/ml i.p. (Gesamtreduktionsrate: 6,9 mg/ml). Da in den beiden vergleichbaren Arbeiten untersuchungsbedingt letztlich nur die Reduktion zwischen der vierten Woche a.p. und der Geburt bewertet werden kann, seien die eigenen Ergebnisse deshalb auch ab der vierten Woche a.p. damit verglichen. Dabei ergibt sich, dass in der eigenen Studie eine drastische Abnahme der intravasalen Gesamt-IgG-Titer von  $29,0 \pm 11,6$  mg/ml (vierte Woche a.p.) auf  $15,0 \pm 6,4$  mg/ml in der partalen Phase nachgewiesen werden konnte. Der absolute Verlust an IgG betrug also 14 mg/ml, respektive vermutete 8,4 mg/ml für IgG<sub>1</sub>, gegenüber 4 mg IgG<sub>1</sub>/ml (Detilleux et al., 1995) respektive 6,9 mg IgG<sub>1</sub>/ml (Franklin et al., 2005). Folgt man allerdings den Befunden von Kickhöfen et al. (1968) und Butler (1969), dass nur IgG<sub>1</sub> in das Eutergewebe diffundiert, während IgG<sub>2</sub> im Blut verbleibt, würde dies bedeuten, dass der anteilmäßige Abfall von IgG<sub>1</sub> deutlich höher, also weit mehr als 8,4 mg/ml, sein müsste. Werden die Ergebnisse jedoch auf prozentualer Grundlage betrachtet, ist ersichtlich, dass die antepartale Verminderungen der humoralen Gesamt-IgG-Gehalte der vorgelegten Forschungsarbeit von der vierten Woche bis zum Partus mit 48,3 % etwas niedriger war als die alleinige Reduktion des IgG<sub>1</sub> in den aufgeführten Publikationen (Detilleux et al. (1995): ca. 62%; Franklin et al. (2005): 67,5 %) in diesem Zeitraum. Diese Differenzen ließen sich durchaus mit dem selektiven Abfluss von IgG<sub>1</sub> ins Euter (Kickhöfen et al., 1968; Butler, 1969) erklären. Dadurch wäre die relative Gesamtabnahme an IgG geringer als die alleinige prozentuale Reduktion des IgG<sub>1</sub>. Aber auch die absoluten Konzentrationsangaben divergieren zwischen den beiden Publikationen und der eigenen Arbeit. Hier spielen sicherlich die erwähnten methodenbedingten Messgenauigkeiten mit eine Rolle.

Von Interesse war in diesem Zusammenhang besonders die Frage, ob die Abnahme der IgG-Konzentration im letzten Trimester der Gravidität in Relation zum maternalen Alter steht. Während bei Larson (1958), Detilleux et al. (1995) und Franklin et al. (2005) die Graviditätszahl keine Beachtung in der Auswertung fand, wurde diesem Problem in der

vorliegenden Studie erstmals nachgegangen. Als Resultat dieses Auswertungsmodus kann angegeben werden, dass diesbezüglich weder signifikante Unterschiede in den absoluten intravasalen IgG-Konzentrationen über den gesamten Untersuchungszeitraum hinweg, noch in der Höhe des antepartalen IgG-Abfalles in Abhängigkeit von der Parität bestehen ( $p > 0,05$ ). Dies bedeutet, dass nach derzeitigem Stand des Wissens davon auszugehen ist, dass die intravasale Verminderung der IgG-Gehalte in der Zeit acht Wochen a.p. bis unmittelbar vor der Geburt kein altersabhängiger Prozess zu sein scheint. Dazu muss angegeben werden, dass die Probanden mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode im Alter von drei bis acht Jahren waren, so dass die Aussage demzufolge auch nur für diese Altersgruppen gelten kann. Ob für Muttertiere über acht Jahre gleiche Verhältnisse zutreffen, bleibt offen. Zu berücksichtigen ist dabei, dass das Probandenkollektiv bewusst aus Kühen aufgebaut wurde, welche altersmäßig dem derzeitigen Durchschnitt in den Beständen entsprachen. Dieses wird laut offizieller Statistik mit 5,3 Jahren angegeben (ADR: Arbeitsgemeinschaft Deutscher Rinderzüchter e.V.).

Bei der weiteren vergleichenden Auswertung der Daten aus den angeführten Publikationen mit den Eigenen wurde ersichtlich, dass sowohl Unterschiede hinsichtlich der intravasalen Gehalte als auch des Verlaufes der humoralen IgM-Konzentrationen im Zeitraum vom Ende der Laktationsperiode bis zur Geburt bestehen. Nach Franklin et al. (2005) bleiben die IgM-Konzentration von der vierten Woche a.p. bis zur Geburt nahezu konstant auf einem Niveau um 3,2 mg/ml. Fraglich bleibt dabei, welchen Einfluss die Impfungen auf die humoralen IgM-Werte genommen haben könnten. Detilleux et al. (1995) meinen dagegen eine Abnahme der humoralen IgM-Konzentration von der 5. Woche a.p. bis in die peripartale Zeit (von 2,8 mg/ml auf 2,5 mg/ml) zu erkennen, die allerdings nur tendenziell war und sich nicht statistisch sichern ließ.

In Erweiterung zu diesen Resultaten der beiden Forschungsgruppen ließ sich durch die vorliegende Untersuchung feststellen, dass es ante partum, parallel zur IgG-Reduktion, ebenfalls zu einer hoch signifikanten Abnahme der intravasalen IgM-Konzentration kommt ( $p < 0,001$ ). Dies geschah, im Gegensatz zum IgG, jedoch nicht ab der achten Woche a.p., sondern erst von der vierten Woche a.p. ( $7,7 \pm 5,3$  mg/ml) an und zog sich bis in die subpartale Periode hinein fort ( $3,7 \pm 2,5$  mg/ml). Damit kann die von Franklin et al. (2005) angegebene Konstanz der intravasalen IgM-Werte nicht bestätigt werden und die von

Detilleux et al. (1995) aufgezeigte, nur tendenzielle Abnahme der IgM-Gehalte von der 5. Woche a.p. bis in die peripartale Zeit näher verifiziert und statistisch eindeutig belegt werden. Weiterhin ist anzumerken, dass der arithmetische Mittelwert der ante- und intrapartalen, mittels des äußerst spezifischen und sensitiven ELISA's bestimmten IgM-Gehalte geringfügig über dem bislang publizierten Konzentrationsbereich von 2,5 mg/ml (Detilleux et al., 1995) respektive 3,2 mg/ml (Franklin et al., 2005) lag. Daran ist erkennbar, dass wahrscheinlich in Folge der Anwendung verschieden präzise arbeitender Methoden auch die IgM-Konzentrationsermittlung gewissen Schwankungen unterliegt. Ergänzend konnte zudem gezeigt werden, dass es, in Analogie zum IgG, auch bei den Verschiebungen der intravasalen IgM-Konzentrationen im peripartalen Zeitraum keine Differenzen in Abhängigkeit von der Parität gab, die statistisch nachweisbar gewesen wären ( $p > 0,05$ ). Nach dem derzeitigen Forschungsstand ist zusätzlich davon auszugehen, dass auch die intravasale Verminderung der IgM-Konzentrationen in der Zeit vierte Woche a.p. bis unmittelbar vor der Geburt kein altersabhängiger Prozess ist. Allerdings gilt diese Feststellung, parallel zum IgG, ebenfalls nur für Milchrindern in der Altersklasse von drei bis acht Jahren.

Das Phänomen der antepartalen Reduktion der humoralen Immunglobulinkonzentrationen beim Milchrind scheint jedoch kein spezieübergreifendes zu sein, da es tierartliche Unterschiede im peripartalen Verlauf der Immunglobulinkonzentrationen gibt. So bleiben beispielsweise, im Gegensatz zu Milchrindern, bei Warmblutstuten die IgG-Konzentrationen von sieben Tagen a.p. bis 96 Stunden p.p. konstant auf Werten zwischen 33,55 mg/ml und 35,78 mg/ml (Warko und Bostedt, 1993). Dies deckt sich mit den Beobachtungen von Eisenhauer (1981), die keinen wesentlichen Abfall der IgG-Gehalte von der Geburt bis eine Woche p.p. feststellte. Wahrscheinlich bestehen aber innerhalb der Spezies gewisse Rasseabhängigkeiten, weil Jeffcott (1974) von einem Abfall der Gammaglobulinkonzentration im Blutserum tragender Shetland-Ponys von circa 11,00 mg/ml in der Zeit von zwei bis drei Wochen ante partum auf 9,70 mg/ml drei Wochen p.p. berichtete. Keine Kenntnisse liegen diesbezüglich bislang für Schafe, Ziegen und Schweine vor.

Obwohl die Möglichkeit schon seit langem besteht, IgG- und IgM-Profile direkt zu bestimmen (Klaus et al., 1969; Curtain et al., 1971; Brandon et al., 1971; Duncan et al., 1972; Norman et al., 1981; Detilleux et al., 1995; Franklin et al., 2005), werden ungeachtet dessen bis in die jüngste Zeit hinein immer wieder Hilfsparameter herangezogen, um die allgemeine

peripartale Abwehrsituation beim Milchrind auf diese Weise abzuschätzen. Als Beispiele dafür können die Publikationen von Kehrli (1989), Goff und Horst (1997), Goff und Kimura (2002) sowie von Kimura et al. (2002) gelten. In ihnen dienen die differenten Konzentrationsbestimmungen der Lymphozyten, den Vorläufern der immunglobulinproduzierenden Plasmazellen, dazu, die bovine Immunitätslage im peripartalen Zeitraum zu charakterisieren.

Goff und Horst (1997) beziehen sich in ihrer Übersichtsarbeit auf die Publikation von Kehrli (1989). Sie nehmen die Ergebnisse seiner Veröffentlichung, in der eine signifikante Abnahme der Lymphozytenwerte im Blut von Milchrindern von der fünften Woche a.p. bis zur Geburt dargestellt wurde, und versuchten damit die allgemein angenommene peripartale Abwehrschwäche zu belegen. Erst in darauffolgenden eigenen Untersuchungen haben Goff und Kimura (2002) sowie Kimura et al. (2002) die intravasalen Lymphozytenkonzentrationen selbst bestimmt und konnten dadurch die Erkenntnissen von Kehrli (1989) bestätigen.

Allerdings geben diese Studien nur indirekte Hinweise auf die peripartale Abwehrsituation, und es bleibt bislang die Frage offen, ob tatsächlich allein an der Zahl der humoralen Lymphozyten in diesem Zeitraum die bovine Immunitätslage sicher einschätzbar ist. Aus dieser Überlegung heraus wurde die eigene Untersuchung zur Überprüfung dieser Zusammenhänge so konzipiert, dass gleichzeitig zur Bestimmung von IgG und IgM auch eine Quantifizierung der Lymphozytenpopulation in der Zeit von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche p.p. vorgenommen worden ist. So ließen sich die Korrelationen zwischen den humoralen Immunglobulinen und den Lymphozyten errechnen.

Gleichgerichtet zur Erkenntnis über einen präpartalen Abfall der Lymphozyten im bovinen Blut von Kehrli (1989), konnte in der vorgelegten Forschungsarbeit gezeigt werden, dass es zu einer kaskadenartigen Abnahme der intravasalen Lymphozytengehalte von der achten Woche a.p. ( $2,9 \pm 1,0$  G/l) bis in die subpartale Zeit ( $2,3 \pm 0,8$  G/l) kommt. Trotz der relativ hohen Standardabweichungen an den einzelnen Bestimmungszeitpunkten, war die Reduktion im Gesamtverlauf statistisch zu belegen ( $p < 0,001$ ).

Es gelang im Weiteren, hoch signifikante Kreuzkorrelationen zwischen dem zeitlichen Verlauf der präpartalen Reduktion der Lymphozyten und der der Immunglobuline G ( $r = 0,14$ ;  $p = 0,01$ ) und M ( $r = 0,15$ ;  $p < 0,001$ ) darzustellen. Damit ist die bisherige Annahme, dass der Immunstatus bei Milchrindern global durch die Bestimmung der Lymphozytenzahlen abzuschätzen ist, als gesichert anzusehen. Eine exakte Quantifizierung des humoralen Immunglobulinstatus anhand der individuellen Lymphozytenkonzentration ist allerdings nicht

möglich. Es kann auf dieser Basis lediglich eine semiquantitative Einschätzung vorgenommen werden. Bei sinkenden Lymphozytenwerten ist zwar davon auszugehen, dass sich auch die intravasalen Immunglobulinkonzentrationen parallel dazu verringern. Eine genaue Aussage über die tatsächlich existenten Immunglobulinkonzentrationen kann allerdings nicht getroffen werden. Aber gerade diese Festlegung wäre von klinischer Bedeutung, wobei dies, was noch näher zu diskutieren ist, sowohl Relevanz für die Ausstattung des Kolostrums mit Immunglobulin G und M als auch für eine eventuelle Voraussage über Verlauf und Schweregrad postpartaler Störungen hat. Als Beispiele dafür seien im Folgenden die Probanden E 14 und E 8 dargestellt. Während sich die intravasalen IgG- und IgM-Gehalte bei der Kuh E 14 von der achten Woche a.p. bis intra partum um 75,3 % respektive 86,6 % (IgG: von 38,9 auf 9,6 mg/ml; IgM: von 14,2 auf 1,9 mg/ml) verringerten, nahmen die Konzentration der Lymphozyten zwar auch ab, aber nur um 30,2 % (von 4,3 auf 3,0 G/l). Sichtbar ist, dass vom Gehalt der Lymphozyten i.p. (3,0 G/l) nicht auf die stark minimierten intrapartalen Konzentrationen von 9,6 mg IgG/ml oder 1,9 mg IgM/ml zu schließen ist. Bestätigen lässt sich dies auch durch die Daten von Tier E 8. Bei ihm lag eine ähnlich hohe antepartale Reduktion der Lymphozyten von 32,5 % (von 3,4 auf 2,3 G/l) vor. Die Verminderung des IgG's betrug aber nur 48,7 % (von 35,7 auf 18,3 mg/ml) und die des IgM's nur 45,6 % (von 5,7 auf 3,1 mg/ml). Damit lagen die intrapartalen IgG- (18,3 mg/ml) und IgM-Werte (3,1 mg/ml) deutlich höher als die vom Rind E 14. Der intrapartale Lymphozytengehalt des Probanden E 8 mit 2,3 G/l fiel aber vergleichsweise niedriger aus als der vom Probanden E 14 (3,0 G/l).

Diese beiden Einzelfallbeschreibungen, sie ließen sich noch ausweiten, zeigen, dass die Lymphozytenzählung nur einen relativen Hinweis auf die Immunitätslage zulässt, keinesfalls aber eine direkte errechenbare Beziehung zwischen den Lymphozytengehalten im Blut und entsprechender intravasaler IgG- und IgM-Konzentration besteht. Die Möglichkeit der direkten IgG- und IgM-Messung bietet dagegen erhebliche Vorteile und insbesondere exaktere Daten im Individualfall gegenüber allen bisherigen Methoden, um den humoralen Immunstatus bei Milchrindern zu charakterisieren. Natürlich muss unter klinischen Aspekten in diesem Zusammenhang auch die zeitnahe Verfügbarkeit der zu ermittelten Werte Berücksichtigung finden. Eine Lymphozytenzählung mittels automatischen Analysegeräten benötigt einen Zeitaufwand von wenigen Minuten. Die direkte Bestimmung der Immunglobuline dauert dagegen wesentlich länger. Allerdings gibt es auch zwischen den verschiedenen Methoden zur Immunglobulinbestimmung selbst nicht übersehbare

Unterschiede in deren zeitlichem Bedarf. Während ein Durchlauf bei der radialen Immundiffusion ungefähr 48 Stunden dauert, lässt sich der Messvorgang bei Anwendung des neuen ELISA's immerhin auf zwölf Stunden begrenzen. Auch dies ist noch zu lang, um ihn routinemäßig in der Praxis einsetzen zu können. Es wäre deshalb hilfreich, wenn eine praktikable Strip-Technik auf der Grundlage eines ELISA's entwickelt würde, die es gestattet, direkt und zeitgleich die intravasale IgG- und IgM-Konzentration beim Rind zu bestimmen (Bender und Bostedt, 2008). Dann könnte auf dieser Basis eine bessere Einschätzung des Immunstatus bei Muttertieren ante und post partum vorgenommen werden und die Bestimmung der Lymphozytenzahl entfielen.

Die Tatsache, dass es zumindest beim Milchrind einen präpartalen IgG- und IgM-Abfall gibt, scheint ein Widerspruch in sich selbst zu sein, da das Muttertier gerade im peripartalen Zeitraum ein stabiles Immunsystem haben sollte. Bei genauerer Betrachtung ist die Frage nach der Ursache in einem komplexen Zusammenspiel mehrerer physiologischer oder pathophysiologischer Prozesse zu stellen, was im Weiteren näher zu untersuchen war. Keinesfalls kann die Antwort lauten, dass dies durch einen übermäßigen Verbrauch an Antikörpern in Folge einer viralen oder bakteriellen Belastung bedingt war, da die 18 Tiere mit komplikationsfreier Geburt und ungestörter postpartaler Periode vor und über den Bestimmungszeitraum hinweg klinisch völlig gesund waren und somit ein infektiöses Geschehen als mögliche Erklärung ausscheidet.

Vielmehr ist als ein bedeutender Faktor für die intravasale IgG-Reduktion im letzten Trimester der Gravidität die Diffusion der Immunglobulin G-Moleküle ins Eutergewebe anzusehen. Dort kommt es schließlich zur Akkumulation, um so ein gehaltvolles Kolostrum zur passiven Immunisierung des bovinen Neonaten vorrätig zu halten. Diese Annahme steht im Einklang mit den Beobachtungen von Larson (1958), der erstmals eine Erhöhung der Globulinfraktion im trockenstehenden Euter vom 45. Tag a.p. bis zum dritten Tag a.p. bei gleichzeitiger Erniedrigung der  $\gamma_1$ - und  $\beta_2$ -Konzentration im Serum von der sechsten Woche a.p. bis zum Partus eruierte und daher postulierte, dass ein Transfer der Proteinfractionen aus dem Blut in das Euter während der Trockenstehphase existieren muss. Jedoch konnte Larson (1958) weder eine qualitative Aussage über die Natur der Globuline noch eine quantitative Angabe über den absoluten Gehalt treffen. Auch nach Ansicht von Kickhöfen (1968) und Butler (1973) beruht die Erniedrigung der intravasalen  $\gamma_1$ - und  $\beta_2$ -Fraktion in der Trockenstehphase hauptsächlich auf einem Abfluss des IgG<sub>1</sub> in die Milchdrüse, während IgG<sub>2</sub>



im Blut verbleibt. Detilleux et al. (1995) und Franklin et al. (2005) beschreiben zwar auch den bereits angeführten präpartalen Abfall von IgG<sub>1</sub>. Jedoch stellen die Autorengruppen diesen nur dar, ohne ihn weiter zu hinterfragen. Sie stützen sich bei der Bewertung ihrer Resultate allein auf die Interpretation von Larson (1958).

Durch die vorgelegte Arbeit konnte nachgewiesen werden, dass es eine signifikant positive Korrelation ( $r = 0,56$ ) zwischen der Menge des intravasalen Verlustes von der Trockenstellung (achte Woche a.p.) bis zum Partus an IgG und dem IgG-Gehalt im Kolostrum gibt ( $p = 0,016$ ). Dies bedeutet, dass die Kühe mit einer erheblichen antepartalen Reduktion der intravasalen IgG-Titer dementsprechend eine hohe kolostralen IgG-Konzentration aufweisen. So konnte bei dem Proband E 17 mit einem der höchsten humoralen IgG-Absenkungen a.p. von 49,2 auf 10,6 mg/ml ( $38,6 \text{ mg/ml} = 78,5 \%$ ) auch ein maximaler Gehalt von 122,5 mg/ml IgG im Kolostrum gefunden werden. Dem gegenüber hatte die Kuh E 7 lediglich eine IgG-Konzentration von 69,6 mg/ml in der Biestmilch, bei einer Verminderung der intravasalen Werte von 16,0 auf 11,9 mg/ml, also um 4,1 mg/ml respektive 25,6 %, im antepartalen Abschnitt. Die höchste kolostrale IgG-Konzentration von 156,1 mg/ml war bei dem Studientier E 14 zu messen. Bei ihm lag eine präpartal intravasale Reduktion an IgG um 29,3 mg/ml vor (von 38,9 auf 9,6 mg/ml = 75,3 %). Die Gehalte des Immunglobulin G im Kolostrum (33,1 bis 156,1 mg/ml) überstiegen bei allen Tieren die jeweiligen intravasalen Konzentrationen des gesamten Untersuchungszeitraumes (6,0 bis 50,0 mg/ml) bei weitem.

Dieser Entzug des IgG aus dem maternalen Blutsystem im letzten Trimester der Gravidität des Milchrindes und dessen Transfer ins Euter im Rahmen der graviditätsassoziierten metabolischen und hämodynamischen Prozesse ist den Resultaten der eigenen Studie nach als ein biologischer Vorgang zu interpretieren. Barrington et al. (1997) publizierten in diesem Zusammenhang, dass im Eutergewebe von graviden Milchkühen in der Trockenstehphase vor allem IgG<sub>1</sub>-Rezeptoren exprimiert werden und diese in viel höherer Zahl vorhanden sind als in laktierenden. Daran können die vom Blut ins Euter diffundierten IgG<sub>1</sub>-Moleküle binden. Es kommt dort zu einer Akkumulation. Dieses Resultat ist eine Erklärung für die bereits von Larson (1958), Kickhöfen et al. (1968) und Butler (1969) publizierte Umkompartimentierung der intravasalen Globuline, vorwiegend IgG<sub>1</sub>, ins Euter. Deshalb ist das IgG<sub>1</sub>-Molekül mit einem Anteil von circa 81 % das dominierende Immunglobulin im Kolostrum (Kickhöfen et al., 1968; Butler, 1969).

Bei der weiteren Bewertung der eigenen Ergebnisse zeigte sich, dass die ermittelten kolostralen IgG-Werte der vorliegenden Dissertationsschrift im Einklang mit der Studie von Stengel (1998) liegen, der ebenfalls IgG-Gehalte in einem Konzentrationsbereich von 3,5 bis zu 136,7 mg/ml in der Biestmilch von Kühen der Rasse Deutsch Schwarzbunte und Deutsch Rotbunte mit der ersten bis sechsten Geburt bestimmen konnte. Lack (2006) sowie Bender und Bostedt (2008) stellten dagegen bei Kühen der Rasse Holstein Friesian, die in beiden Arbeiten zum ersten bis siebten Mal geboren hatten, insgesamt niedrigere IgG-Konzentrationen von 10,7 bis 93,1 mg/ml (Lack, 2006) respektive von 8,2 bis zu 75,5 mg/ml (Bender und Bostedt, 2008) Kolostrum fest. Obwohl alle drei Untersuchungen mit der gleichen Methode durchgeführt wurden, fällt auf, dass doch gewisse Unterschiede in den angegebenen kolostralen Konzentrationen der Studien von Stengel (1998), Lack (2006), Bender und Bostedt (2008) sowie der eigenen erkennbar sind. Fraglich ist, ob sich dieser Umstand alleine durch eine eventuelle differente Dichte an exprimierten IgG<sub>1</sub>-Rezeptoren im Euter erklären ließe, oder ob es noch andere Faktoren gibt, die dies mit begründen könnten.

Bei der weiteren Analyse der Einzeltierwerte der vorgelegten Arbeit konnte in diesem Zusammenhang gezeigt werden, dass die Milchkühe, welche einen enormen Abfall an IgG im Blut in der Trockenstehphase aufwiesen und dem entsprechend auch hohe Gehalte im Kolostrum hatten, auch gleichzeitig die Probanden waren, bei denen die größten intravasalen Ausgangskonzentrationen in der achten Woche a.p. bestimmt wurden. Daher war eine Klassifizierung der Tiere möglich. Die erste Klasse bildeten die Rinder, welche eine hohe humorale IgG-Konzentration ( $> 35$  mg/ml) in der achten Woche a.p. hatten. Diese waren in der Folge auch in der Lage, eine große Menge davon ins Euter umzukompartimentieren. Die zweite Klasse bestand aus Rindern, die mit einem suboptimalen Gehalt an intravasalem IgG ( $< 35$  mg/ml) zum Zeitpunkt der Trockenstellung ausgestattet waren. Diese konnten folglich nur einen geringen Abfluss ins Euter gewährleisten und hatten dementsprechend niedrigere kolostrale Werte. Dies sei an einigen Beispielen erläutert. Das Tier E 17 wies zum Zeitpunkt der Trockenstellung einen intravasalen IgG-Titer von 49,2 mg/ml und das Rind E 11 einen von 48,8 mg/ml auf. Die Gesamtreduktion betrug bei ihnen bis zum Partus 38,5 mg/ml (E 17) respektive 40,7 mg/ml (E 11). Die zu messenden kolostralen IgG-Konzentrationen waren erwartungsgemäß hoch (E 17: 122,5; E 11: 95,6 mg/ml). Dem gegenüber seien zwei Probanden (E 1, E 7) aufgeführt, deren Ausgangssituation schlechter als die von den Erstgenannten war (Beginn der Trockenstehphase: E 1: 21,8 mg/ml; E 7: 16,0 mg/ml). Es

kam bei diesen Kühen im gleichen Zeitraum lediglich zu einer Reduktion von 4,9 mg/ml (E 1) respektive 4,0 mg/ml (E 7) an humoralem IgG. Dem entsprechend lagen die IgG-Gehalt im Erstgemelk ebenfalls niedriger (E 1: 79,8 mg/ml; E 7: 69,6 mg/ml). Daraus ist abzuleiten, dass, neben einer möglichen differentiellen IgG<sub>1</sub>-Rezeptordichte im Euter, die Ausstattung an humoralen IgG zum Zeitpunkt der Trockenstellung ein wichtiger Faktor ist, der die mögliche Menge an abfließenden Immunglobulinen und damit deren Gehalt im Kolostrum mit bedingt. Die zitierten Publikationen von Stengel (1998), Lack (2006) sowie Bender und Bostedt (2008) beinhalten auf Grund vollkommen anderer Zielstellungen keine Hinweise darauf, welche Ausgangslagen bei deren Probandengruppen zur Zeit des Abbruchs der Laktation bestanden. Hier liegt eventuell eine Erklärung für die unterschiedlichen Angaben der kolostralen IgG-Konzentrationen.

Am Datenmaterial der eigenen Studie war aber zusätzlich ersichtlich, dass die Kühen E 11 und E 17, bei einem nahezu gleichen präpartalen IgG-Abfall (E 11: 40,7 mg/ml; E 17: 38,6 mg/ml) zwar hohe kolostrale IgG-Gehalte von 95,6 mg/ml (E 11) und 122,5 mg/ml (E 17) hatten, wie dies zu erwarten war. Allerdings differierten die Kolostrumgehalte an IgG sichtlich. Die Erklärung dafür ist in zweierlei Weise zu geben. Zum einen kann die schon angedeutete denkbare differente Dichte an IgG<sub>1</sub>-Rezeptoren dafür verantwortlich sein. Als weiterer Punkt sind aber die Resultate von Pritchett et al. (1991) zu bewerten. Diese Arbeitsgruppe stellte fest, dass die Ig-Konzentration in der Biestmilch umso geringer ist, je mehr Erstkolostrum zu ermelken ist. Gerade hochleistende Milchkühe produzieren eine weitaus größere Menge an Biestmilch (bis zu 30 kg/Tag) als dies noch vor zehn und mehr Jahren der Fall war (Pritchett et al., 1991). Sicher ist es so, dass die zu umkompartimentierende Menge an Immunglobulinen ins bovine Euter, aufgrund der wesentlich höheren Masse des Erstgemelk, weitaus größer ist als beim Pferd. Pferde haben in der Regel etwa 4 kg Erstgemelk, Milchrinder der Rassen Holstein Friesian schwarzbunt und rotbunt eines von bis zu 15 kg (Pritchett et al., 1991). Zur Anreicherung dieser höheren Kolostrummasse würden somit auch mehr Antikörper benötigt werden. Die mögliche Menge an abfließenden Immunglobulinen ist, wie bereits gezeigt, jedoch begrenzt. Unter der Annahme, dass der Proband E 11 eine größere Einsatzleistung als das Tier E 17 hatte, ließe sich erklären, dass diese Kuh bei einer größeren Reduktion der intravasalen IgG-Werte (40,7 mg/ml), im Gegensatz zu dem Tier E 17 (38,6 mg/ml), eine niedrigere IgG-Konzentration im Kolostrum (95,6 mg/ml) aufzeigte (E 17: 122,5 mg/ml). Jedoch wurden im Rahmen dieser Untersuchung nach Expulsion der Frucht lediglich drei bis vier Liter Biestmilch ermelken,

um zum einen die Erstversorgung des bovinen Neonaten zu gewährleisten und zum anderen um daraus Proben für die späteren Messungen zu gewinnen. Interessant ist in diesem Zusammenhang die Frage, ob gleiche Verhältnisse bei niederleistenden Kühen oder bei fleischbetonten Rinderrassen gegeben sind. Zur Abklärung dieses Umstandes ist weitere Forschungsarbeit nötig.

Auf die Tierart Rind bezogen, scheint der Entzug von IgG aus der Blutbahn im letzten Trimester der Gravidität und der Akkumulation im Eutergewebe sinnvoll. Eine diaplazentare Übertragung maternaler Immunglobuline zur passiven Immunisierung des Fetus, wie dies bei Nagetieren, Primaten und dem Menschen der Fall ist, fällt aufgrund der plazentaren Verhältnisse beim Rind grundsätzlich weg. In der Übersichtsarbeit von Bostedt (2004) wird dargestellt, dass bei der bovinen Form der Plazenta (*Placenta epitheliochorialis cotyledonaria*), im Gegensatz zu der des Menschen und teilweise auch des Hundes, der fetomaternalen Stoffaustausch lediglich durch Endo- und Exozytose erfolgen kann. Eine erleichterte Diffusion zum Transport höhermolekularer Substanzen, wie beim Menschen, Primaten und Nagern (*Placenta haemochoriales*) sowie bedingt bei Caniden (*Placenta endotheliochorialis*) ist nicht möglich (Samuel et al., 1976). Daher gestattet die Plazenta des Rindes (*Placenta epitheliochorialis cotyledonaria*) nur kleineren Molekülen einen Übertritt vom Kreislauf der Mutter in den des Fetus (Björckman, 1954). Die Folge davon ist, dass Immunglobuline als Makromoleküle die Plazentabarriere des Rindes nicht penetrieren können (Schnorr, 1996). Deshalb verfügen alle Neonaten von den Spezies mit einer *Placenta epitheliochorialis* über keine maternalen Immunglobuline zum Zeitpunkt der Geburt (Warko und Bostedt, 1993). Die von Bender und Bostedt (2008) in ihrer Studie nachgewiesenen minimalen präkolostralen IgG-Gehalte von 0,009 mg/ml und IgM-Werte von 0,007 mg/ml im Serum boviner Neonaten stammen wahrscheinlich aus der Eigensynthese.

Nachdem die Verminderung der intravasalen IgG-Werte im Zeitraum von der Trockenstellung bis zum Partus in Beziehung zu deren Gehalt im Kolostrum steht, ist dieser Zusammenhang für das IgM nicht so einfach zu belegen. Hier ist die Fragestellung nach dem Grund der intravasalen Reduktion der IgM-Konzentration von der vierten Woche a.p. bis zum Partus nicht vollends zu klären. IgM ist ein Pentamer, welches das Phänomen des „Klassenswitch“ zeigt und bei der Immunantwort, insbesondere bei Erstkontakt mit einem Antigen, eine äußerst wichtige Rolle spielt. Das Phänomen des „Klassenswitch“ beruht auf

dem Genrearrangement eines kleineren Teils der Plasmazellen nach erschöpfter Antikörperproduktion, während der größere Anteil in ein Ruhestadium übergeht. Dadurch wird nach erneutem Kontakt mit dem gleichen Antigen kein IgM produziert, sondern die Zellen sind jetzt in der Lage, unter Wahrung der Spezifität, Immunglobulin G in großer Menge zu produzieren.

In dieser Studie ließ sich keine gerichtete Korrelation zwischen der Höhe des präpartalen Abfalles im Serum und dem kolostralen Gehalt an IgM nachweisen ( $p > 0,05$ ). Es ist also zu diskutieren, ob auf Grund dieser Resultate, überhaupt ein Abfluss von IgM aus dem Blut ins Euter möglich ist. Dies ist sicher so nicht anzunehmen. Denn nach den Ergebnissen der Arbeitsgruppe um Barrington (1997) soll es auch zu einer Penetration des IgM's ins Euter und zur Akkumulation kommen. Die Autoren stützten diese These auf das Resultat ihrer Untersuchung, in der mit Hilfe der Durchflusszytometrie wesentlich höhere IgM-Gehalte in trockenstehenden Eutergeweben nachgewiesen werden konnten als in denen von laktierenden Rindern. Eine denkbare mangelnde Penetrationsfähigkeit des großen IgM-Moleküls (955 bis 1.075 kDa) ins Euter, ist demnach auszuschließen. Nach Kickhöfen et al. (1968) und Butler (1969) können im Kolostrum, parallel zum IgG, IgM-Konzentrationen erreicht werden, die deutlich über denen im Blut liegen. Gleichgerichtet zu diesen Publikationen konnten in der eigenen Studie auch, in Analogie zum IgG, Höchstwerte an IgM von bis zu 44,4 mg/ml im Kolostrum (E 15) bestimmt werden. Das Tier E 15 hatte dabei eine präpartale Abnahme der intravasalen IgM-Konzentration von 3,7 mg/ml in der vierten Woche a.p. auf 1,5 mg/ml zum Geburtszeitpunkt (Gesamtreduktion: 2,2 mg/ml = 59,5 %). Die kolostralen IgM-Titer lagen somit ebenfalls weit über den intravasalen Werten des gesamten Untersuchungszeitraumes ( $\leq 18,9$  mg/ml). Dieses Einzelfallbeispiel ließe sich noch ausweiten. Ob dies allerdings als genereller Nachweis eines IgM-Transfers in das Euter gelten kann, bleibt fraglich. Die fehlende Korrelation zwischen diesen beiden Parametern kann aber möglicherweise damit begründet werden, dass in Einzelfällen trotz hoher antepartaler Abnahmen der intravasalen IgM-Gehalte nur geringe Konzentrationen davon im Kolostrum nachgewiesen werden konnten. Als Beispiel dafür sei der Proband E 11 angeführt. Dieser wies bei einer humoralen IgM-Reduktion von 10,4 mg/ml respektive 80,6 % (vierte Woche a.p.: 12,9 mg/ml; Partus: 2,5 mg/ml) in der antepartalen Phase einen IgM-Wert von lediglich 4,6 mg/ml im Kolostrum auf. Daher wäre anhand der Ergebnisse dieser Studie zumindest denkbar, dass, im Konsens mit der Annahme von Barrington et al. (1997), eine Umkompartimentierung des IgM's vom Blut ins Euter möglich ist, wie dies beim IgG nachgewiesen wurde. Warum dies nicht bei

allen Studientieren dieser Arbeit so deutlich der Fall war, bleibt weiterhin fraglich. Möglicherweise könnte dies an einer denkbaren differentiellen Dichte an exprimierten IgM-Rezeptoren im Eutergewebe gelegen haben.

Neben den bisherigen Erkenntnissen über die Ursachen dafür, dass es bei Milchrindern zu einer sukzessiven Verminderung der intravasalen IgG- und IgM-Gehalte von über 50 % in der Zeit zwischen dem siebten (IgG) und Ende des achten Monats (IgM) der Gestation bis zum Partus kommt, wäre auch der Frage nachzugehen, ob eventuell ein erhöhter Kortisolspiegel in dieser Phase zusätzlich in diesen Reduktionsprozess eingreift. Eine mögliche Immunsuppression im geburtsnahen Zeitraum des Milchrindes wurde nämlich, wie bereits angeführt, immer wieder mit einer erhöhten Kortisolkonzentrationen in diesem Zeitraum in Zusammenhang gebracht (Bostedt und Berchtold, 1968; Comline et al., 1974; Hudson et al., 1975 b; Heuwieser et al., 1987; Thun et al., 1994). Um herauszufinden, ob diese Annahme nachvollzogen werden kann, wurden in dieser Studie Untersuchungen durchgeführt, die eine vergleichende Betrachtung des zeitlichen Verlaufes der intravasalen Immunglobulinkonzentrationen und den Kortisolwerten ermöglichte.

Auch wenn in der Grafik Nr. 24 der Eindruck entsteht, dass die Kortisolkonzentration im Blut in der antepartalen Phase gewissen Schwankungen unterliegt, haben die Berechnungen ergeben, dass es zu keinen statistisch signifikanten Profiländerungen von der achten Woche a.p. bis einen Tag vor dem Partus kommt. Die Kortisolkonzentrationen blieben konstant auf einem Level zwischen 1,5 und 3,0 ng/ml. Es ist nicht so, dass es antepartal zu einer Zunahme der Kortisolgehalte käme, die in irgendeiner Weise den IgG- und IgM-Abfall erklären lassen würden. Auch die statistische Berechnung ergab keine Korrelationen im zeitlichen Verlauf dieser Parameter ( $p > 0,05$ ). Daher kann der beobachtete humorale Abfall der Immunglobuline nicht in Bezug zum Kortisolspiegel gesetzt werden.

Es wurde daher versucht abzuklären, ob es noch andere Faktoren gibt, die, bei alleiniger Betrachtung der humoralen und im Sekret der Milchdrüse vorhandenen IgG- und IgM-Konzentrationen, die Reduktion und den mangelhaften Ausgleich des antepartal intravasalen Immunglobulinlevels begründen könnten. Dafür kam folgender Ansatz in Betracht. Bekannt ist, dass die in der Thyreoidea gebildeten Hormone bei der Regulation der Proteinbiosynthese mit beteiligt sind (Bernal und Refetoff, 1977).  $T_4$  wird in der Schilddrüse produziert und nach Sekretion in das intravasale System durch partielle Dejodierung in die biologisch aktive Form

des  $T_3$  überführt. Dieses  $T_3$  erhöht die „turn-over“-Rate und steigert somit den Proteinmetabolismus, in dem es die Transkriptionsrate mit steuert, wodurch spezifische Enzyme synthetisiert werden. Dadurch wird in der Folge auch die Antikörperproduktion moduliert (Bernal und Refetoff, 1977). Dies würde sich dann indirekt auf den intravasalen Immunglobulingehalt auswirken. Diese Überlegung war Ausgangspunkt, parallel zu den Immunglobulin-, auch die Thyroxin- ( $T_4$ ) und Trijodthyronin- ( $T_3$ ) Konzentrationen mit zu bestimmen.

Es konnten hoch signifikante Abnahmen der  $T_4$ - und  $fT_4$ -Konzentrationen vom Ende des siebten Monats der Gravidität bis zur Geburt eruiert werden ( $T_4$ :  $4,8 \pm 1,7 \mu\text{g/dl}$  auf  $2,4 \pm 0,7 \mu\text{g/dl}$ ,  $p < 0,001$ ;  $fT_4$ :  $1,05 \pm 0,26 \text{ ng/dl}$  auf  $0,62 \pm 0,15 \text{ ng/dl}$ ,  $p < 0,001$ ). Die eigenen Ergebnisse stehen im Konsens zur Untersuchung von Otto (2003), die ebenfalls beschreibt, dass die  $T_4$ -Konzentrationen bei Milchkühen der Rasse Deutsche Schwarzbunte in den letzten 100 Tagen vor dem Partus ( $8,4 \pm 0,3 \mu\text{g/dl}$ ) signifikant höher sind als die  $T_4$ -Serumgehalte in der frühen postpartalen Periode ( $\leq 30$ . Tag p.p.:  $6,3 \pm 0,3 \mu\text{g/dl}$ ). Beim Vergleich dieser Studie mit den eigenen Resultaten fällt jedoch auf, dass das Konzentrationsgefälle in der Zeit von ante partum zu post partum zwar gleichgerichtet ist, aber die absoluten Gehaltsangaben nicht unerheblich differieren. Ob dies durch die verschiedenen Beprobungszeitpunkte oder die Methodik der Konzentrationsbestimmung (Otto: kompetitiver Enzymimmunoassay der ehemaligen Firma Boehringer, Mannheim; eigene Studie: Chemiluminescence Assay der Firma Ciba Corning Diagnostic GmbH, Fernwald) bedingt ist, konnte weiter nicht geklärt werden.

Im Versuch, die in diesem Zusammenhang aufgestellten These zu begründen, gelang der Nachweis einer signifikanten Kreuzkorrelation zwischen den präpartalen Veränderungen der  $T_4$ - sowie den  $fT_4$ -Werte und den antepartalen Reduktionen der IgG- und IgM-Gehalte ( $p < 0,01$ ). In Parallelität dazu war zwar keine signifikante, aber eine tendenzielle Abnahme der  $T_3$ - und  $fT_3$ -Konzentrationen für denselben Zeitraum darstellbar. Dies erklärt sich eventuell damit, dass das  $T_3$  durch eine partielle Dejodierung des  $T_4$  gebildet wird. Deshalb wird, trotz der Abnahme der Konzentration an zirkulierendem  $T_4$ , durch die aktive Dejodase weiterhin  $T_3$  gebildet, wodurch dessen intravasale Konzentration bis zu einem gewissen Punkt weitgehend aufrecht erhalten werden kann (Larsen, 1982). Erst bei längerfristig reduzierten Gehalten an  $T_4$  sinken auch die intravasalen  $T_3$ -Werte.

Die ermittelten Daten geben einen Hinweis darauf, dass die Abnahme der Thyreoidhormonkonzentration im Zeitraum von der Trockenstellung bis zum Partus mit einer Rolle bei der antepartalen Reduktion der intravasalen IgG- und IgM-Gehalte zu spielen scheint. Offenbar bestehen keine optimalen Bedingungen für eine maximale Synthese für IgG und IgM zwischen dem siebten Monat der Gravidität und dem Partus. Dies könnte ein Grund dafür sein, dass die Abflussrate höher ist als die Quote der Neubildung, so dass es insgesamt zur Verminderung der humoralen Immunglobulingehalte kommt. In Erweiterung der von Larson (1958) angegebenen und von Detilleux et al. (1995) und Franklin et al. (2005) übernommenen Erklärung für die Reduktion der intravasalen IgG<sub>1</sub>-Konzentrationen im letzten Trimester der Gravidität kann also neben der Umkompartimentierung ein weiterer Aspekt angeführt werden, der den intravasalen Abfall der Immunglobuline von der Trockenstellung bis zur Geburt hin mit begründen könnte. Die Ergebnisse der vorgelegten Dissertationsschrift zeigen auf, dass eine Beziehung zwischen einer verminderten Bildung der Schilddrüsenhormone und dem humoralen Immunglobulinstatus im letzten Trimester der Gravidität besteht.

Zur Komplementierung wurde zusätzlich überprüft, ob es einen Zusammenhang zwischen dem Konzentrationsverlauf der Schilddrüsenhormone und dem der Lymphozytengehalte, als Vorläufern der immunglobulinproduzierenden Plasmazellen, im Blut gibt. In Bezug darauf kann als Resultat der vorliegenden Forschungsarbeit angegeben werden, dass das antepartale Lymphozytenprofil, in Analogie zu dem des IgG und IgM, ebenfalls hoch signifikant mit den Veränderungen der Konzentrationen der Schilddrüsenhormone kreuzkorreliert ist. Die Abnahmen der Lymphozyten im bovinen Blut vom Ende der Laktationsperiode ( $2,9 \pm 1,0$  G/l) bis zum Partus ( $2,3 \pm 0,8$  G/l) stehen in zeitlicher Beziehung zur Reduktion der T<sub>4</sub>- ( $r = 0,36$ ;  $p < 0,001$ ), fT<sub>4</sub>- ( $r = 0,31$ ;  $p < 0,001$ ), T<sub>3</sub>- ( $r = 0,18$ ;  $p < 0,05$ ), und fT<sub>3</sub>-Gehalte ( $r = 0,26$ ;  $p < 0,01$ ) in dieser Zeitspanne. Damit kann indirekt belegt werden, dass zwischen der Reduktion der Schilddrüsenhormone, der Verminderung der intravasalen Immunglobulinwerte sowie der Konzentrationserniedrigung der Lymphozyten Abhängigkeiten existent sind.

Nachgegangen werden musste in diesem Zusammenhang aber auch dem Hinweis in der zugänglichen Literatur, der darstellt, dass die Plasmagehalte an T<sub>3</sub> und T<sub>4</sub> mit von der Menge an Selen im Nahrungsangebot beeinflusst werden. Ein Selenmangel soll bei Kühen zur signifikanten Erniedrigungen der T<sub>3</sub>-Konzentrationen bei gleichzeitiger Erhöhung der T<sub>4</sub>-



Konzentrationen führen (Awadeh et al., 1998). Begründet wird dies in der Form, dass Selen Bestandteil des Enzyms Dejodase ist, welches das  $T_4$  in  $T_3$  konvertiert (Beckett et al., 1987).

Dabei müssen auch die Erkenntnisse von Goff (2006) mit einbezogen werden, die besagen, dass ein Mangel an Selen zusammen mit Vitamin E zu einer verminderten Aktivität der neutrophilen Granulozyten führt. Ähnliche Auswirkungen auf die Lymphozyten und Plasmazellen sind bislang zwar unbekannt, können aber nicht ausgeschlossen werden.

Belegt ist, dass eine ausreichende Versorgung mit Selen bei den in die Untersuchung einbezogenen Probanden gegeben war. Dies wurde indirekt durch die Bestimmung der Glutathionperoxidase im Blut überprüft. Alle Tiere wiesen sowohl zum Zeitpunkt der Trockenstellung als auch zum Partus eine Aktivität des Enzyms auf, die deutlich über der Bedenklichkeitsgrenze von 250 U/g Hämoglobin lag. Auch die Versorgung mit Vitamin E war gesichert, da über die Nahrung die Supplementierung in ausreichender Menge geschah. Daher sind die festgestellten Abnahmen der  $T_3$ -Gehalte, der Lymphozytenzahl und der humoralen Immunglobulinfraktionen im Blut in der antepartalen Phase nicht auf diese Komponenten zurück zu führen.

Sicher sind damit nicht alle Faktoren benannt, die direkt oder indirekt dazu beitragen, dass der Abfluss von intravasalem IgG und IgM nicht durch eine erhöhte Neubildungsrate an Immunglobulinen bis zur Geburt ausgeglichen wird. Es ist nicht ganz auszuschließen, dass dieses Phänomen eventuell eine Folge der Leistungsmaximierung darstellt. Diese Annahme ist jedoch erst zu klären, wenn Ergebnisse von Vergleichsuntersuchungen an ursprünglichen Rinderrassen vorliegen. In diesem Zusammenhang ist geplant, Parkrinder (Urrinder aus England) mit originärer Laktationsleistung (900 bis 1200 kg), welche in einem Schutzgebiet in Schleswig-Holstein gehalten werden, zu beproben, um deren humorale sowie kolostrale IgG- und IgM-Konzentrationen zu bestimmen. Hierdurch wäre die Möglichkeit eines Vergleiches zwischen dem antepartalen Immunstatus sowie der Ausstattung des Kolostrums mit IgG und IgM von Primitiv- und durch Zucht veredelte, auf Hochleistung getrimmte Rinderrassen gegeben.

Die Kernaussage der bisherigen Darstellung ist also, dass es bei Milchkühen der Rasse HF SB und HF RB zu einer sukzessiven Verminderung der intravasalen IgG- und IgM-Konzentrationen in der Trockenstehphase kommt. Es ist davon auszugehen, dass sie in der Zeit zwischen dem siebten (IgG) und Ende des achten Monates (IgM) der Gestation bis zum

Partus über 50 % der intravasalen IgG- und IgM-Gehalte verlieren. Dies wird begleitet von einem Abfall der Lymphozyten und der Schilddrüsenhormone im Blut. Diese Zustände sind offenbar als „biologisches Phänomen“ im letzten Trimester der Gravidität beim Milchrind anzusehen. Denn die eigenen Ergebnisse stehen zum einen im Konsens zu den Arbeiten von Larson (1958), Detilleux et al. (1995) sowie Franklin et al. (2005), zum anderen aber auch zu denen von Goff und Horst (1997), Goff und Kimura (2002) sowie Kimura et al. (2002), die sich direkt oder indirekt mit der Abwehrsituation in der Zeit vom letzten Trimester der Gestation bis in die peripartale Zeit verschiedener Rinderrassen beschäftigt haben.

Neben dem antepartalen Abschnitt (achte Woche a.p. bis einen Tag a.p.) wurde im Rahmen der Untersuchung auch der peripartale Zeitraum einer eingehenden Analyse unterzogen. Die peripartale Phase ist für die Besprechung der ermittelten Resultate auf die Zeit von einem Tag vor bis einen Tag nach dem Partus begrenzt worden. Sub partu wurden sowohl zu Beginn (G II) als auch am Ende (G IV) der Austreibungsphase (Stadium II der Geburt) die intravasalen IgG-, IgM- und Kortisolkonzentrationen bestimmt.

Anhand der fortlaufenden Messungen, ausgeführt am selben, genau definierten Probandenkollektiv, konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass sowohl das absolute Minimum der IgG-Werte ( $15,0 \pm 6,4$  mg/ml) als auch das der IgM-Titer ( $3,7 \pm 2,5$  mg/ml) direkt intra partum, zu Beginn der Austreibungsphase (G II), erreicht ist. Gemessen vom Ausgangswert in der achten (IgG) bzw. vierten Woche a.p. (IgM) entsprach dies einer Reduktion von 59,3% (IgG,  $p < 0,001$ ) respektive 51,9 % (IgM;  $p < 0,001$ ).

Zusätzlich konnte dargestellt werden, dass es erst unter dem Geburtsgeschehen zu einem sprunghaften Anstieg des Kortisols im Plasma um 258 % (von  $2,4 \pm 2,4$  ng/ml einen Tag a.p. auf  $6,2 \pm 2,8$  ng/ml;  $p < 0,001$ ) kommt. Bereits 24 Stunden p.p. erreichten die Durchschnittswerte wieder den Bereich, in dem sie sich auch antepartal bewegt hatten ( $p < 0,001$ ). Diese Resultate sind weitestgehend konform mit denen von Hoffmann et al. (1973) und Hudson et al. (1975b). Die Kortisolwerte befanden sich in der Arbeit von Hoffmann et al. (1973) 50 Stunden a.p. noch auf dem Basalniveau von 3 bis 4 ng/ml. Sie stiegen dann bis zum Partus an und waren unter der Geburt um das Zwei- bis Dreifache erhöht. Schon 15 Stunden post partum sanken sie wieder ab. Eine etwas andere Verlaufsform beschrieben Hudson et al. (1975b). Sie fanden einen signifikanten Anstieg der maternalen Kortisolwerte um 279%, der allerdings schon 48 Stunden a.p., von 6,2 ng/ml auf 17,3 ng/ml bis zum Geburtsbeginn,

einsetzte. Die Kortisolkonzentrationen fielen dann bereits eine halbe Stunde post partum um 44 % auf 11,2 ng/ml wieder ab. Sie erreichten aber, im Gegensatz zu den Aussagen von Hoffmann et al. (1973) und den Resultaten dieser Arbeit, erst am dritten Tag post partum wieder ihre Basalwerte.

Die Berechnungen der Daten ergaben, dass intra partum eine negative Korrelation zwischen dem humoralen Immunglobulinlevel und dem Kortisolspiegel gegeben ist. Zu diesem Zeitpunkt war die Kortisolkonzentration mit  $6,2 \pm 2,8$  ng/ml am höchsten, während die Immunglobulintiter (IgG und IgM) ihr Minimum erreicht hatten ( $p < 0,01$ ). Es könnte daher sein, dass die erhöhte Kortisolmenge noch einen zusätzlichen Einfluss auf die IgG- und IgM-Situation i.p. nimmt und so zu einer absoluten Minimierung führt. Diese Annahme ist jedoch in gewisser Weise fragwürdig. Bei Tieren mit Eutokie und folgender ungestörter postpartaler Periode kam es nämlich bereits während der Austreibungsphase (Stadium II der Geburt) wieder zu einem leichten Anstieg der intravasalen IgG-Konzentration (G II:  $15,0 \pm 6,4$  mg/ml auf G IV:  $15,6 \pm 6,8$  mg/ml;  $p < 0,01$ ), obwohl in dieser kurzen Zeitspanne die Kortisolkonzentrationen noch leicht zunahmen. Sie stiegen zwischen dem Beginn und Ende des Stadiums II von  $6,2 \pm 2,8$  ng/ml auf den Höchstwert von  $6,7 \pm 3,3$  ng/ml an. Die erniedrigten intravasalen Immunglobulingehalte und der erhöhte Kortisollevel sub partu stehen daher wahrscheinlich mehr in zeitlicher Koinzidenz zueinander, als dass anzunehmen wäre, dass von der Maximierung der Kortisolkonzentration unter den Bedingungen einer Eutokie ein wesentlicher, länger anhaltender negativer Impuls auf die bereits minimierten IgG- und IgM-Werte sub partu ausginge.

Interessant ist in diesem Zusammenhang noch ein anderer Gesichtspunkt. So haben Kimura et al. (2006) die Wirkung von Kalziumionen bei der Stimulation der Lymphozyten nachgewiesen. Diese fungieren dabei als intrazelluläre „second messenger“ bei der Signaltransduktion. Da gerade durch die Kontraktion des Myometriums in Form von Wehen sub partu und die beginnende Laktation sehr viel ionisiertes Kalzium benötigt wird, bedeutet dies, dass bei einem erniedrigten Kalziumspiegel des Blutes auch der intrazelluläre Gehalt der mononukleären Zellen gerade im peripartalen Zeitraum reduziert ist. Rinder befinden sich im peripartalen Abschnitt in einer vorübergehenden biologischen Hypokalzämiephase (Bostedt, 1972). Daher könnte es sein, dass dadurch die Proliferationsrate der Lymphozyten, in Folge des Mangels an Kalzium, reduziert ist (Kimura et al., 2006). Somit ist eine Beteiligung dieses

Prozesses an der Reduktion der humoralen IgG- und IgM-Konzentrationen im peripartalen Intervall nicht ausgeschlossen. Denkbar wäre auch, dass der erniedrigte Gehalt an ionisiertem Kalzium unter der Geburt einen zusätzlichen Faktor für die Reduktion der intravasalen Immunglobuline bis zum Beginn des Stadiums II der Geburt, durch verminderte Stimulation der Lymphozyten und damit auch der antikörperbildenden Plasmazellen, darstellt. Dafür spricht die Tatsache, dass mit Erreichen des absoluten Minimums an humoralen Immunglobulinkonzentrationen (IgG:  $15,0 \pm 6,4$  mg/ml; IgM:  $3,7 \pm 2,5$  mg/ml) zu Beginn der Austreibungsphase (G II) auch die Lymphozytenzahlen im Blut die minimalsten Werte aufweisen ( $2,3 \pm 0,8$  G/l). Dagegen spricht, dass es in dieser Studie vom Beginn bis zum Ende des Stadiums II zu einem Anstieg der intravasalen IgG-Titer von  $15,0 \pm 6,4$  mg/ml auf  $15,6 \pm 6,8$  mg/ml kam, obwohl in dieser Phase der Kalziumgehalt im Blut immer noch erniedrigt ist (Bostedt, 1972; Seyrek-Intas, 1993). Im Gegensatz zum IgG verharrten die humoralen IgM-Gehalte im gleichen Abschnitt auf niedrigem Niveau. Aufgrund des Untersuchungsrythmus kann aber nicht gesagt werden, ob zu diesem Zeitpunkt auch die Lymphozytenwerte bereits wieder einen Aufwärtstrend zeigen. Wenn auch angenommen werden kann, dass ein Einfluss des intrazellulären Kalziums auf die intravasale IgG- und IgM-Konzentrationen besteht, sind die Auswirkungen sicherlich als gering einzuschätzen. Zur Klärung dieses Komplexes müssen aber weitergehende Untersuchungen folgen.

Im Weiteren wurde der Frage nachgegangen, in welchem Zeitraum es zum Ausgleich des Verlustes an humoralen Immunglobulinen kommt. Die eigene Untersuchung erstreckte sich daher nicht nur auf die ante- und peripartale Periode, sondern schloss auch den postpartalen Abschnitt bis zur vierten Woche, dem Ende des von Arbeiter (1973) so bezeichneten klinischen Puerperiums, mit ein. Auch in diesem Abschnitt des Reproduktionszyklus wurde dasselbe Probandenkollektiv beprobt und die Messungen weitergeführt. Allerdings fanden in der Auswertung dieses Abschnittes nur die Kühe eine Berücksichtigung, die ohne Komplikationen abgekalbt und eine ungestörte postpartale Periode aufgewiesen hatten. Deshalb verminderte sich die Probandenzahl von ursprünglich 21 auf 18. Denn bei drei Muttertieren trat ein bis drei Tage p.p. eine akute Mastitis auf.

Festzustellen war, dass die intravasalen IgG-Werte bei den gesund gebliebenen Tieren bis zum siebten Tag post partum auf niedrigem Niveau stagnierten. Erst danach folgte ein stetiger Anstieg bis zum Ende der vierten Woche p.p. ( $p < 0,001$ ). Die IgG-Konzentrationen der

vierten Woche p.p. ( $36,2 \pm 9,9$  mg/ml) entsprachen im Durchschnitt dann wieder denen, die in der achten Woche a.p. ( $36,8 \pm 11,6$  mg/ml) gemessen werden konnten. Bemerkenswert dabei sind die Ergebnisse der Einzeltierauswertungen. Die Probanden der Klasse I, welche eine hohe humorale Ausgangskonzentration an IgG zum Zeitpunkt der Trockenstellung hatten ( $> 35$  mg/ml), wiesen auch in der vierten Woche p.p. wieder diese hohen Werte auf. Dem entsprechend waren bei den Tiere der Klasse II, die von vornherein eine schlechtere Ausgangssituation ( $< 35$  mg/ml) in der achten Woche a.p. hatten, am Ende des Untersuchungszeitraumes ebenfalls niedrigere Werte zu messen. Dies sei an einigen Beispielen erläutert. Die Kühe E 9, E 14 und E 18 (Klasse I) verfügten in der vierten Woche p.p. über intravasale IgG-Gehalte (E9: 48,9 mg/ml; E 14: 35,9 mg/ml; E 18: 48,4 mg/ml), die nahezu deckungsgleich mit denen der achten Woche a.p. waren (E9: 48,9 mg/ml; E 14: 38,9 mg/ml; E 18: 48,3 mg/ml). In gleicher Weise wurden bei den Rindern E 10, E 12, E 20 (Klasse II), die in der achten Woche a.p. IgG-Werte von weniger als 35 mg/ml hatten (E 10: 25,9 mg/ml; E 12: 23,1 mg/ml; E 20: 20,3 mg/ml) auch am Ende des Untersuchungszeitraumes IgG-Level im Blut bestimmt, die in diesem niedrigeren Konzentrationsbereich lagen (E 10: 22,2 mg/ml; E 12: 32,2 mg/ml; E 20: 22,7 mg/ml). Daraus lässt sich ableiten, dass bei Milchkühen möglicherweise eine individuelle biologisch vorgegebene „Normkonzentration“ für die humoralen Immunglobuline bestehen könnte.

In der zugänglichen Literatur finden sich zu diesem Themenkomplex nur Teilresultate. Franklin et al. (2005) beschreiben zwar auch einen Anstieg der IgG<sub>1</sub>-Titer bis zur dritten Woche p.p.. Jedoch stellen deren Messwerte, wie bereits betont, aufgrund der Vakzinierung aller Studientiere in der vierten und in der zweiten Woche a.p., keine direkten Vergleichsobjekte für die vorgelegte Untersuchung dar. Dagegen zeigen die Ergebnisse der Veröffentlichung von Detilleux et al. (1995) eine gewisse Analogie zu den Ergebnissen der vorliegenden Studie auf. Diese Arbeitsgruppe publizierte, dass sich die IgG<sub>1</sub>-Konzentration von 2 mg/ml i.p. auf ungenau bezifferte Gehalte von „circa 8 mg/ml“ in der dritten Woche p.p. erhöht hatte, um dann auf diesem Niveau bis zur fünften Woche p.p. zu stagnieren. Weiterhin gaben sie an, dass IgG<sub>2</sub>-Werte bis zur dritten Woche p.p. protrahiert auf Werte anstiegen, welche etwa 20% höher lagen als die Ausgangswerte (um 1,4 mg/ml), und bis zur fünften Woche p.p., dem Studienende dieser Publikation, konstant auf diesem Level verweilten. Werden die Konzentrationen der IgG-Subklassen addiert, hat dies als Resultat eine Gesamterhöhung des IgG von 6,4 mg/ml vom Partus (circa 3,4 mg/ml) bis zur dritten Woche p.p. (circa 9,8 mg/ml). Allerdings ist beim Vergleich dieser Werte mit den eigenen

erkennbar, dass die IgG-Gehalte der Publikation von Detilleux et al. (1995) im Zeitraum nach der Geburt, wie schon in der antepartalen Phase, deutlich unter denen liegen, die in der vorliegenden Studie ermittelt werden konnten.

Einen anderen Verlauf nahmen dagegen die IgM-Titer. Es konnte festgestellt werden, dass die humoralen IgM-Konzentrationen, im Gegensatz zum IgG, im gesamten Untersuchungszeitraum bis zur vierten Woche p.p. auf relativ konstantem Niveau zwischen 3,5 und 5,0 mg/ml verharrten. Die Werte liegen somit deutlich unter dem durchschnittlichen Konzentrationsbereich, der von der achten bis zur vierten Woche a.p. zu ermitteln war (6 bis 7 mg/ml). Dieses Ergebnis steht größtenteils in Übereinstimmung mit dem von Detilleux et al. (1995). Auch sie gaben an, dass sich die IgM-Werte in der vierten Woche p.p. (2,4 mg/ml) unter den Werten befanden, die in der fünften Woche a.p. zu messen gewesen waren. Das Defizit machte 7 % aus. Die postpartalen Werte der eigenen Studie befanden sich, wie ersichtlich, 16,7 bis 50,0 % unter den antepartalen Konzentrationen. In gleicher Weise differieren auch die angegebenen absoluten IgM-Werte dieser Arbeit mit den eigenen. Der Grund für die Diskrepanz der angegebenen Messergebnisse ist sicherlich die Verwendung der radialen Immundiffusion als Methode bei der Publikation von Detilleux et al. (1995) mit den bereits aufgeführten methodisch bedingten Schwächen und Nachteilen gegenüber dem in dieser Studie verwendeten kompetitiven ELISA.

Weiterhin seien in diesem Zusammenhang der postpartale Konzentrationsverlauf der Lymphozyten in die Bewertung mit einbezogen. In Analogie zur Veröffentlichung von Goff und Horst (1997) konnte in dieser Dissertationsschrift ebenfalls ein genereller protrahierter Anstieg der Lymphozytengehalte im Plasma nach der Geburt festgestellt werden. Allerdings publizierten Goff und Horst (1997) nur einen Anstieg bis zum 14. Tage p.p. mit nachfolgender relativer Konstanz der Werte bis zur vierten Woche p.p.. Dagegen konnte in der vorliegenden Studie aufgezeigt werden, dass es vom Ende des Partus ( $2,3 \pm 0,8$  G/l) bis zur vierten Woche p.p. ( $2,5 \pm 1,2$  G/l) zu einer steten Zunahme der Lymphozytenzahl im Blut kommt, die in ihrer Kontinuität statistisch gesichert werden konnte ( $p = 0,026$ ).

Bei der vergleichenden Betrachtung des postpartalen Verlaufes der Lymphozyten und des IgG's sowie IgM's konnte lediglich eine signifikante Kreuzkorrelation zu den intravasalen IgG- ( $r = 0,14$ ;  $p = 0,01$ ), jedoch nicht zu den IgM-Werten ( $p > 0,05$ ) nachgewiesen werden. Diese Resultate zeigen erneut, dass die intravasale Lymphozytenkonzentration nur bedingt geeignet sind, den humoralen Immunstatus bei Milchrindern abzuschätzen. Die direkte IgG-

und IgM-Messung böte dagegen die Möglichkeit, den bovinen Immunstatus auch in dieser als labil anzusehenden Periode näher zu quantifizieren und damit besser zu charakterisieren.

Im Folgenden konnte durch die weitere Auswertung der postpartalen Kortisolkonzentrationen der Probanden mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode im Vergleich zu den intravasalen IgG- und IgM- Gehalten abermals verdeutlicht werden, dass der Kortisollevel keinen Einfluss auf die intravasalen Immunglobulingehalte hatte. Die humoralen Kortisoltitel verblieben in der eigenen Studie von 24 Stunden p.p. bis zur vierten Woche p.p. konstant auf einem Basalniveau zwischen 1,0 und 2,0 ng/ml ( $p > 0,05$ ). Im gleichen Zeitraum war ein Anstieg der IgG-Konzentrationen zu verzeichnen. Dem entgegen blieben die humoralen IgM-Titer auf einem erniedrigten Niveau. Die statistische Berechnung ergab, dass keine Kreuzkorrelationen zwischen dem Kortisolgehalt und den IgG- sowie IgM-Werten im Blut bestanden.

Letztendlich wurde in der vorgelegten Dissertationsschrift der Konzentrationsverlauf der humoralen IgG- und IgM-Konzentrationen in der postpartalen Periode mit der Entwicklung der Schilddrüsenhormone verglichen, wobei folgende Ergebnisse ermittelt werden konnten. Es kommt unmittelbar post partum zu einer signifikanten Reduktion der  $T_3$ - und  $fT_3$ -Gehalte im Plasma bis zum fünften Tag p.p. ( $T_3$ : Abfall von  $0,84 \pm 0,25$  ng/ml auf  $0,59 \pm 0,16$  ng/ml,  $p < 0,05$ ;  $fT_3$ : Abfall von  $3,2 \pm 0,6$  pg/ml auf  $2,5 \pm 0,5$  pg/ml,  $p < 0,05$ ). Zusätzlich sind auch die  $T_4$  und  $fT_4$ -Werte in der Zeitspanne vom Partus bis zur vierten Woche p.p. ( $T_4$ : um  $2,0$  µg/dl;  $fT_4$ : um  $0,6$  ng/ml), gegenüber den Werten zu Beginn der Trockenstehphase ( $T_4$ :  $4,8 \pm 1,7$  µg/dl;  $fT_4$ :  $1,1 \pm 0,3$  ng/ml), deutlich erniedrigt. Diese Resultate stehen im gewissen Einklang mit den Ergebnissen von Awadeh et al. (1998). Sie fanden bei Fleischrinder der Rasse Angus und Kreuzungstieren daraus zum Geburtszeitpunkt signifikant höhere Plasmakonzentrationen an  $T_3$  ( $1,03$  ng/ml) und  $T_4$  ( $3,8$  µg/dl) als im dritten und neunten Monat post partum ( $T_3$ :  $0,85$  bis  $0,87$  ng/ml;  $T_4$ :  $2,2$  bis  $3,7$  µg/dl). Nicht zu übersehen ist allerdings, dass die Gehalte der Schilddrüsenhormone im Blut von Fleischrindern und hoch leistenden Milchrindern zwar einen ähnlichen Verlauf zeigen, aber die absoluten Gehalte bei den fleischbetonten Rassen deutlich höher zu sein scheinen als bei milchbetonten. Natürlich könnte es auch ein methodenbedingter Unterschied sein (Awadeh et al.: Radioimmunoassay, Coat-A-Count procedure, Diagnostic Products, Los Angeles; eigene Studie: Chemiluminescence Assay der Firma Ciba Corning Diagnostic GmbH, Fernwald).

Durch die eigenen Ergebnisse konnte somit gezeigt werden, dass die antepartal festgestellte Korrelation zwischen den zeitlichen Veränderungen der Schilddrüsenhormone und den der intravasalen Immunglobuline in den ersten vier Wochen p.p. mit sich täglich steigender Laktationsleistung offenbar nicht mehr von Relevanz war. Die divergierenden Verläufe der humoralen IgG- und IgM-Titer standen nun in keiner Verbindung mehr zu denen der Thyreoidhormone. Es scheint daher entweder so zu sein, dass ein Einfluss der Thyreoidhormone auf die Immunglobulinbildung durch eine Erhöhung der Transkriptionsrate erst zeitlich verzögert eintritt, oder dass die Auswirkungen auf die Antikörperbildung in der postpartalen Periode als gering anzusehen ist. Es muss daher noch andere Faktoren geben, die den Anstieg der humoralen IgG- und die Konstanz der IgM-Werte in der postpartalen Periode bedingen. Auch die Abklärung dieser Fragestellung bedarf weiterer Untersuchungen.

In Parallelität zu den humoralen Immunglobulinen konnte auch keine Beziehung zwischen dem postpartalen Verlauf der Lymphozyten zu dem der Schilddrüsenhormone eruiert werden. Die  $T_3$ -,  $fT_3$ -,  $T_4$ - und  $fT_4$ -Gehalte im Blut blieben post partum, bis zur vierten Woche, auf erniedrigtem Niveau. Im gleichen Zeitraum stagnierten die Lymphozytenwerte nur bis zum fünften Tag p.p. auf einem erniedrigten Level um 2,2 G/l, stiegen aber, im Gegensatz zu den Thyreoidhormonen, in der Folge bis zur vierten Woche p.p. auf  $2,5 \pm 1,2$  G/l an.

Nach den ermittelten Resultaten der vorliegenden Dissertationsschrift scheint es so zu sein, dass die Kompensation des antepartalen Verlustes an humoralem IgG beim Milchrind post partum mindestens vier Wochen andauert. Parallel dazu steigen auch die intravasalen Lymphozytenkonzentrationen. Eine Erhöhung der IgM-Konzentrationen bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes, der vierten Woche p.p., war nicht gegeben. Die Ursache dafür und die Frage, ab wann es wieder zu einer Erhöhung der humoralen IgM-Gehalte kommt, ist mit dieser Studie nicht zu klären gewesen. Insgesamt ist davon auszugehen, dass sich das Immunsystem bei Milchrindern nicht nur im peripartalen, sondern auch im frühen postpartalen Zeitraum in einer labilen Lage befindet. Ob bereits geringe oder erst schwerwiegendere Störungen in und nach dem Partus dieses empfindliche Gleichgewicht zum Entgleisen bringen können, wurde in einem weiteren Teil dieser Untersuchung nachgegangen.



Aufgegriffen wurde in ihm der Problemkomplex, der sich auf die Verhältnisse bei den Muttertieren hinsichtlich des IgG- und IgM-Status bezieht, die unmittelbar nach Abschluss eines störungsfreien Geburtsgeschehens an einer Infektion des Euters oder des uterin-vaginalen Bereiches erkrankten. Das ursprüngliche auf 21 Tiere festgelegte Probandenkollektiv, bei denen die Nachgeburt zeitgerecht, bis acht Stunden nach Expulsion der Frucht, abgegangen war, reduzierte sich für die Erstellung von Normwerten aus diesen Gründen um drei Probanden. Diese entwickelten post partum, innerhalb eines Zeitraumes von drei Tagen, eine klinisch manifeste Mastitis. Sie fanden deshalb in der Normwertgruppe keine Berücksichtigung, da sie das Kriterium der komplikationsfreien Geburt zwar erfüllt hatten, jedoch keine störungsfreie postpartale Periode durchliefen. Deshalb unterlagen sie einer Sonderbewertung, bei der einige beachtenswerte Ergebnisse ermittelt werden konnten.

Auffällig war, dass, wenn es innerhalb der ersten ein bis drei Tage nach einer Eutokie zum Ausbruch einer klinischen Mastitis kam, die IgG-Titer mit  $13,6 \pm 4,3$  mg/ml bereits zu Beginn der Geburt (G II) geringfügig unter denen von Rindern mit Eutokie und weiterhin ungestörter postpartaler Periode ( $15,0 \pm 6,4$  mg/ml;  $p > 0,05$ ) lagen. Bis zum Ende der Austreibungsphase (G IV) sanken die Konzentrationen bei den Tieren, die später eine Mastitis entwickelt haben, jedoch merklich ab ( $10,8 \pm 6,6$  mg/ml; - 20,6 %). Im Gegensatz dazu kam es zwischenzeitlich zu einem geringfügigen Konzentrationsanstieg bei den Kontrolltieren (G IV:  $15,6 \pm 6,8$  mg/ml), der sich, nach einer siebentägigen Stagnation, bis zum zehnten post partum fortsetzte ( $27,7 \pm 9,2$  mg/ml). Ab dem Stadium III der Geburt (Nachgeburtsphase) war bei den Kühen mit Mastitis zwar ebenfalls eine Erhöhung der IgG-Werte bis zum zehnten Tag p.p. ( $22,5 \pm 4,4$  mg/ml), dem Ende des Beprobungszeitraumes dieser Tiere, zu registrieren. Jedoch verlief dieser Anstieg wesentlich protrahierter und die IgG-Konzentrationen blieben auch während dieser Zeitspanne permanent unter denen der Milchrinder mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode (*Grafik 38*).

Die Interpretation dieses Ergebnisses ist schwierig und lässt sich besser in Zusammenhang mit den ermittelten Resultaten des Verlaufes der intravasalen IgM-Konzentration bei diesen Kühen erläutern. Im Gegensatz zum IgG zeigten die IgM-Gehalte nämlich einen völlig anderen Verlauf. Die drei, mit einer postpartalen Mastitis belasteten Tiere, hatten mit  $8,4 \pm 1,9$  mg/ml schon intrapartal (G II) einen um 128 % höheren intravasalen IgM-Level gegenüber den gesund gebliebenen Tieren ( $3,7 \pm 2,5$  mg/ml). Die Konzentrationsunterschiede konnten aufgrund der geringen Tierzahl ( $n = 3$ ) jedoch nicht statistisch gesichert werden ( $p > 0,05$ ). Im Weiteren lagen die Werte während des ganzen Beprobungszeitraumes deutlich über

den Referenzwerten. Auch am zehnten Tag p.p. war die intravasale IgM-Konzentration mit  $8,5 \pm 6,0$  mg/ml noch um 65 % höher als der Wert der Kontrolltiere ( $5,0 \pm 4,7$  mg/ml), was ebenfalls nicht statistisch belegt werden konnte ( $p > 0,05$ ). Zu erwähnen ist, dass bei allen drei Tieren unter der Behandlung eine völlige Genesung eintrat.

Anhand dieser Ergebnisse, insbesondere der bereits intra partum differierenden Konzentrationen, wäre daran zu denken, dass schon sub partu inflammatorische Prozesse im Euter stattgefunden haben mussten, die dann in der Folgezeit einerseits zum Verbrauch an Immunglobulinen und andererseits zur Stimulation der Antikörperproduktion führten. Dass eine prä- oder intrapartale Infektion des Eutergewebes beim Rind vorliegen kann, welche die Grundlage für eine später auftretende manifeste Mastitis bildet, wurde durch Publikation von Sobiraj et al. (1988) dargestellt. Diese Arbeitsgruppe wies an einem größeren Patientenpool ( $n = 100$ ) primiparer Rindern der Rasse Deutsch-Schwarzbuntes und Deutsch-Rotbuntes Niederungsvieh nach, dass sich bei einem Teil von ihnen bereits intra partum euterpathogene Bakterien im Kolostrum befinden können. Von den 100 Tieren hatten 59 einen positiven bakteriologischen Befund (*Streptococcus* (Sc.) *uberis*, Sc. *dysgalactiae*, Sc. *agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Klebsiellen und sonstige Coliforme). Interessant dabei ist, dass bereits 35 dieser Tiere i.p. klinisch feststellbare Veränderungen in Form einer Galaktophoritis, einer akuten katarrhalischen Mastitis oder einer Mastitis phlegmonosa acuta aufwiesen. Die anderen 24 dieser infizierten Probanden zeigten zum Partus keinerlei klinische Anzeichen einer Mastitis, obwohl sie bereits zu diesem Zeitpunkt mit dem gleichen pathogenen Erregerspektrum infiziert waren. Bei ihnen kam es erst zwischen dem dritten und fünften Tag p.p. zur Apparenz einer katarrhalischen beziehungsweise phlegmonösen Euterentzündung. Die drei Probanden der eigenen Studie mit Mastitis p.p. könnten also ebenfalls schon intra partum Träger euterpathogener Keime gewesen sein und sich so im Prodromalstadium dieser Krankheit befunden haben. Leider wurde versäumt, routinemäßig bei der Geburt das Kolostrum bakteriologisch zu überprüfen. Dies wurde erst am Tage der Erkrankung durchgeführt (Nachweis von Scc. *dysgalactiae*, Scc. *uberis* und Coliforme). Ausgehend von der vagen Annahme, dass diese drei Probanden bereits sub partu euterinfiziert gewesen sein konnten, wäre auf dieser Basis auch zu erklären, warum bei ihnen bereits zum Geburtsgeschehen von der Kontrollgruppe abweichende Immunglobulinwerte existent waren und sich in der Folge bis zum zehnten Tag p.p. unter respektive über ihnen befanden.

Die erhöhten IgM-Werte im Blut dieser Kühe sub partu können als Reaktion des Immunsystems auf das zu diesem Zeitpunkt wahrscheinlich schon bestehende larvierte

Entzündungsgeschehen gewertet werden. Die Erniedrigung der IgG-Gehalte ließe sich mit dem erhöhten Verbrauch durch den Infektionsprozess erklären. Das IgG reagiert zwar wesentlich spezifischer als IgM, welches bei Erstkontakt gebildet wird, jedoch wird nach einer Antigenexposition mehr Zeit zur Synthese der IgG-Moleküle benötigt (Nossal et al., 1965). Daraus ließe sich auch erklären, warum es zu einem protrahierten Anstieg der intravasalen IgG-Konzentration bis zum zehnten Tag p.p. kam, während die humoralen IgM-Gehalte in diesem Zeitraum permanent erhöht waren.

Aufgrund des Nachweises, dass generell, trotz komplikationsfreiem Geburtsgeschehen, eine labile peripartale Immunitätslage bei Milchkühen gegeben ist, stellt die Abwehrsituation bei denen, die zusätzlich eine komplikationsbehaftete Geburt durchlaufen hatten und danach entweder eine ungestörte oder eine gestörte postpartaler Periode (*Retentio secundinarum*, mit damit verbundener Mastitis, postpartale Toxämie sowie Septikämie) aufwiesen, einen weiteren Schwerpunkt der vorgelegten Untersuchung zur Erfassung der Immunlage dar.

Bislang gibt es zwar einige Publikationen, in denen versucht wurde, diese Problematik zu thematisieren (Kehrli et al., 1989; Bleul, 1998; Kimura et al., 2002; Diez-Fraile et al., 2003; Goff, 2006; Kimura et al., 2006; Lamote et al., 2006). Aber allen Studien ist gleich, dass sie zur Beantwortung dieser Frage Hilfsparameter in Form des Verhaltens neutrophiler Granulozyten oder Lymphozyten verwendeten, welche den humoralen Immunstatus nur indirekt charakterisieren können. Wie bereits beschrieben, ist davon auszugehen, dass derartige Daten diesen jedoch nicht so exakt widerspiegeln wie der tatsächliche Immunglobulinlevel im Blut. Während Kehrli et al. (1989), Diez-Fraile et al. (2003) und Lamote et al. (2006) lediglich eine verminderte Aktivität der Lymphozyten respektive der neutrophilen Granulozyten in der postpartalen Periode nach Dystokien nachwiesen, zeigten Kimura et al. (2002) auf, dass Kühe, bei denen sich die Nachgeburt nicht binnen 24 Stunden gelöst hatte, bereits ante partum eine erniedrigte Lymphozytenfunktion besteht. Gemessen wurde dies von ihnen mit Hilfe der Myeloperoxidaseaktivität. Sie lag bei Tieren mit einer Nachgeburtsverhaltung im Untersuchungszeitraum von 15 Tagen vor bis 15 Tage nach dem Partus 20 bis 40 % niedriger als bei Kühen ohne *Retentio secundinarum*. Die größte Differenz wurde während des Partus ermittelt. Auch Bleul (1998) konnte bei Kühen der Rasse Deutsch Schwarzbunte und Deutsch Rotbunte, die nach einer Dystokie keine Nachgeburtsverhaltung zeigten, im Mittel intra partum signifikant ( $p < 0,05$ ) höhere Lymphozytengehalte im Blut ( $3,0 \pm 1,1$  G/l) ermitteln als bei denen, die nach einen komplikationsbehafteten

Geburtsgeschehen eine Retentio secundinarum entwickelten ( $2,9 \pm 1,3$  G/l). Dieser Unterschied setzte sich über dessen gesamten Untersuchungszeitraum, dem zehnten Tag p.p., fort. Die größte Differenz der Werte war 48 Stunden p.p. zu erkennen (Dystokie ohne Ret. sec.:  $2,8 \pm 0,9$  G/l; Dystokie mit Ret. sec.:  $2,0 \pm 1,0$  G/l;  $p < 0,001$ ). Interessant dabei ist, dass die Art der geleisteten Geburtshilfe (leichte KGH, schwere KGH, Sectio caesarea) weder einen signifikanten Einfluss auf die absolute Lymphozytenkonzentration i.p., noch auf deren zeitlichen Verlauf post partum hatte ( $p > 0,05$ ). In Ergänzung dazu wies Goff (2006) eine erhöhte Inzidenz an Nachgeburtsverhaltungen und Mastitiden bei einer ungenügenden Versorgung mit Vitamin E und Selen nach und erklärte dies mit der daraus resultierenden Beeinträchtigung der Funktion der neutrophilen Granulozyten, ohne diesen Effekt näher zu erläutern. Schon Bostedt und Schramel (1981) wiesen nach, dass der Selengehalt in den Karunkeln von Kühen, die eine Retentio secundinarum entwickeln niedriger ist als in denen von Rindern, welche die Nachgeburt zeitgerecht abstoßen. Die Autoren folgerten daraus, dass dem Selen eine besondere Bedeutung bei der Lösung der Plazenta zukommen muss.

Wie aus diesen genannten Publikationen abzuleiten ist, zeigt sich, dass wohl indirekt ein Zusammenhang zwischen komplikationsbehaftetem Geburtsgeschehen in Verbindung mit nicht zeitgerechtem Abgang der Secundinae und den Profilen an Lymphozyten sowie neutrophilen Granulozyten zu bestehen scheint. Es gibt aber bislang keine Veröffentlichungen, die sich mit einem dystokischen Geschehen beim Rind und dem Auftreten von Komplikationen in der postpartalen Periode in Zusammenhang mit der direkten Quantifizierung des humoralen Immunstatus auseinandersetzt. Der zweite, große Teil der vorgelegten Arbeit hatte daher das Ziel, Störungen während und nach dem Geburtsgeschehen in Verbindung zum individuellen Gehalt der dominierenden humoralen Immunglobuline G und M im peripartalen Zeitraum zu überprüfen.

In diesem Zusammenhang konnte eruiert werden, dass das Geburtsgeschehen selbst (Eutokie oder Dystokie) sowie die Form der assistierten Geburt (KGH oder Sectio caesarea) keinen signifikanten Einfluss auf die intravasalen Immunglobulinkonzentrationen nahmen. Dies steht in Übereinstimmung mit den Befunden von Bleul (1998), der ebenfalls keinen Einfluss des Geburtsgeschehens (leichte KGH, schwere KGH, Sectio caesarea) auf die Lymphozytenzahl i.p. feststellen konnten. Im Mittelwertsvergleich konnten in allen drei Geburtsgruppen der vorliegenden Studie (Eutokie, KGH, Sectio caesarea) intrapartale - G II (Beginn der Austreibungsphase bei Rindern mit Eutokie) respektive G III (Zeitpunkt des geburtshilflichen

Eingreifens bei Rindern mit Dystokie) - IgG-Werte von  $15,0 \pm 6,4$  mg/ml (Eutokie),  $13,8 \pm 11,5$  mg/ml (KGH) und  $12,7 \pm 8,7$  mg/ml (Sectio caesarea) sowie IgM-Titer von  $3,7 \pm 2,5$  mg/ml (Eutokie),  $3,8 \pm 2,1$  mg/ml (KGH) und  $3,6 \pm 3,3$  mg/ml (Sectio caesarea) bestimmt werden. Die arithmetischen intravasalen IgG-Titer der Geburtsgruppen mit KGH (- 8,0 %) und Sectio caesarea (- 15,3 %) waren, im Gegensatz zum IgM, gegenüber denen mit Eutokie zwar augenscheinlich vermindert. Die statistische Überprüfung ergab jedoch keine signifikanten Differenzen zwischen den Gruppen ( $p > 0,05$ ).

Ein etwas anderes Verhältnis war bei den intrapartalen Kortisolkonzentrationen gegeben. Die Gehalte an Kortisol im Plasma waren bei den 36 Rindern mit Dystokie (KGH:  $8,5 \pm 5,9$  ng/ml; Sectio caesarea:  $17,2 \pm 9,0$  ng/ml) im Vergleich zu Tieren mit komplikationsfreier Geburt ( $6,2 \pm 2,8$  ng/ml) signifikant gesteigert ( $p < 0,01$ ), was offensichtlich die erhöhte Belastung des Rindes durch die komplikationsbehaftete Geburt widerspiegelte. Anhand dieser Resultate könnte angenommen werden, dass im Falle einer Dystokie doch ein gewisser Zusammenhang zwischen den, im Vergleich zur Eutokie, geringfügig niedrigeren durchschnittlichen intrapartalen IgG-Titern und den deutlich erhöhten Kortisolwerten besteht. Bei der statistischen Berechnung konnte aber keine Korrelation zwischen diesen Parametern nachgewiesen werden ( $p > 0,05$ ). Gegen diese Vermutung spräche eventuell auch, dass die IgM-Werte dieser Probanden zu diesem Zeitpunkt nahezu identisch waren (Eutokie:  $3,7 \pm 2,5$  mg/ml; KGH:  $3,8 \pm 2,1$  mg/ml; Sectio caesarea:  $3,6 \pm 3,3$  mg/ml). Dies verdeutlicht nochmals, dass der Kortisollevel intra partum nicht direkt mit den intravasalen IgG- und IgM-Gehalten korreliert ist.

Unter Zusammenfassung aller Werte konnten keine direkten Abhängigkeiten zwischen Art des Geburtsablaufes (Eutokie, KGH oder Sectio caesarea) und Höhe der intrapartalen IgG- und IgM-Konzentrationen ermittelt werden. Auffällig waren aber die großen Abweichungen vom Mittelwert innerhalb der Geburtspatientenkollektive. Dies war Anlass, eine differenziertere Auswertung vorzunehmen, wobei nicht so sehr die geburtshilfliche Manipulation im Vordergrund stand. Vielmehr wurden nun Fallgruppen nach dem Kriterium, ob die postpartale Periode physiologisch – Abgang der Secundinae bis zwölf Stunden p.p., normale Zervix- und Uterusinvolution – verlief oder von Störungen (Retentio secundinarum, Endometritis, fieberhafte Puerperalintoxikation, Stoffwechselstörungen, Mastitis) begleitet war. So entstanden folgende zwei größere Patientengruppen. Eine mit Dystokie ohne ( $n= 18$ )

sowie eine weitere mit komplikationsbehafteter Geburt und nachfolgenden Störungen in der postpartalen Periode ( $n = 18$ ). Dies bildete die Basis für die weitere kritische Auswertung und Diskussion.

Unabhängig von der Art des geburtshilflichen Eingriffes (KGH oder Sectio caesarea) war bei den Tieren, die nach einer Dystokie eine komplikationsfreie, frühe postpartale Periode durchliefen, festzustellen, dass die durchschnittlichen intravasalen IgG-Gehalte an den einzelnen Messpunkten sowohl sub partu (G III:  $16,5 \pm 11,1$  mg/ml) als auch im folgenden Beprobungszeitraum bis zum zehnten Tag p.p. annähernd deckungsgleich zu den arithmetischen Mittelwerten der Kontrolltiere (Eutokie und ungestörte postpartale Periode; G II:  $15,0 \pm 6,4$  mg/ml) waren. Lediglich bei den Werten des zehnten Tages p.p. (Kontrollgruppe:  $27,7 \pm 9,2$  mg/ml; Dystokie ohne postpartale Störungen:  $19,0 \pm 12,6$  mg/ml) bestand ein moderater Konzentrationsunterschied. Jedoch ergab die statistische Berechnung keine Signifikanzen zwischen dem Verlauf der IgG-Kurven nach einer Eutokie oder Dystokie, wenn deren postpartale Periode komplikationsfrei verlief ( $p > 0,05$ ). Dieses Resultat überrascht insofern, als dass ursprünglich davon ausgegangen war, dass alleine ein geburtshilflicher Eingriff eine gewisse Aberration im Verlauf der IgG-Werte verursachen könnte. Dem war aber nicht so. Relativ stabile IgG-Gehalte intra partum zeigen unter den Bedingungen einer störungsfreien frühen Phase post partum auch in den kommenden zehn Tagen nach einer Dystokie keine nennenswerten Abweichungen von den Werten der Probanden mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode.

Geringfügig andere Verhältnisse waren dagegen beim Konzentrationsverlauf des IgM's gegeben. Die Mittelwerte der intravasalen IgM-Gehalte bewegten sich bei den Rindern mit Dystokie und ungestörter postpartaler Periode schon zu Beginn des geburtshilflichen Eingreifens (G III:  $4,3 \pm 3,4$  mg/ml), unabhängig von deren Art (KGH oder Sectio caesarea) und bis zum zehnten Tag p.p. ( $5,5 \pm 4,1$  mg/ml) im oberen Referenzbereich der Kontrolltiere (G II:  $3,7 \pm 2,5$  mg/ml; zehnter Tag p.p.:  $5,0 \pm 4,7$  mg/ml). Trotz der erkennbaren Konzentrationsunterschiede zwischen den Kühen nach Eutokie und ungestörter postpartaler Periode und denen nach Dystokie mit komplikationsfreier Zeit nach dem Partus, ergab die statistische Überprüfung keine signifikanten Unterschiede ( $p > 0,05$ ; *Grafik 45 und 46*).

Als Erklärungsversuch für die Resultate von den Probanden, die nach einer Dystokie eine ungestörte frühe postpartale Periode durchliefen, können die Publikationen von Bostedt et al. (1979) und Sobiraj et al. (1987) herangezogen werden. Diese Autorengruppen erbrachten den Nachweis, dass der quantitative Keimgehalt im cavum uteri von Kühen der Rasse Deutsch

Schwarzbunte und Deutsch Rotbunte (Sobiraj et al., 1987) sowie Deutsches Fleckvieh (Bostedt et al., 1979) unmittelbar post partum in erster Linie vom Schweregrad der Geburt abhängig ist und begründeten dies mit dem Keimeintrag durch die geburtshilfliche Manipulation im Genitaltrakt. Der kulturell stärkste Keimnachweis im Uterus wurde dabei von Sobiraj et al. (1987) nach konservativer Geburtshilfe festgestellt, gefolgt von dem nach Schnittentbindung. Den geringsten uterinen Gehalt an Bakterien stellten beide Gruppen, unabhängig voneinander, nach einer Eutokie fest. Das Keimspektrum dieser genannten Untersuchungen war dabei in allen Geburtsgruppen gleich (Nachweis von: *E. coli*, *Proteus species*,  $\alpha$ -hämolisierende und nicht hämolysierende Streptokokken, *Arcanobacterium pyogenes*).

Werden die eigenen Ergebnisse auf der Grundlage dieser Veröffentlichungen bewertet, könnte angenommen werden, dass die geringfügig erhöhten IgM-Werte im Blut der Kühe mit Dystokie und ungestörter postpartaler Periode vom Partus (G III:  $4,3 \pm 3,4$  mg/ml) bis zum zehnten Tag p.p. ( $5,5 \pm 4,1$  mg/ml) eine Folge der Reaktion des Immunsystems auf die bakteriell bedingten moderaten inflammatorischen Prozesse im Genitaltrakt sind. Auch der Verlauf der intravasalen IgG-Konzentrationen würde sich damit zumindest teilweise erklären. Nach Antigenexposition wird mehr Zeit zur Synthese der IgG-Moleküle benötigt als für IgM (Nossal et al., 1965). Daher wäre denkbar, dass sich die IgG-Gehalte, wegen der verzögerten Produktion, vom Geburtsgeschehen (G III:  $16,5 \pm 11,1$  mg/ml) noch bis zum siebten Tag p.p. ( $22,3 \pm 12,2$  mg/ml) im Normwertbereich (G II:  $15,0 \pm 6,4$  mg/ml; siebter Tag p.p.:  $24,8 \pm 10,7$  mg/ml) befinden könnten und nicht, wie auch das IgM, erhöht sind, wie dies in der vorgelegten Studie der Fall war. Dieser Umstand ließe auch eine Erklärung dahingehend zu, dass sich IgG-Werte zwischen dem siebten ( $22,3 \pm 12,2$  mg/ml) und zehnten Tag p.p. ( $19,0 \pm 12,6$  mg/ml) verminderten und nicht mehr den Konzentrationen der Kontrollgruppe entsprachen ( $27,7 \pm 9,2$  mg/ml). Nicht beantwortet werden kann in diesem Zusammenhang die Frage nach der Situation des IgA's, welches einen wichtiger Teil der lokalen Immunität im Uterus darstellt. Seine Aufgabe ist die Virusneutralisation und Agglutination. Somit schützt es die epithelialen Oberflächen, also auch das Endometrium, vor der Anheftung und Kolonisation von pathogenen Mikroorganismen (Bourne und Newby, 1981).

Eine völlig andere Situation lag bei den Probanden vor, die nach einer komplikationsbehafteten Geburt zusätzlich an einer postpartalen Störung (Retentio secundinarum, Endometritis, fieberhafte Puerperalintoxikation, Stoffwechselstörungen,

Mastitis) erkrankt waren. Hier lagen die humoralen IgG-Titer schon zum Geburtszeitpunkt (G III:  $9,9 \pm 7,3$  mg/ml) signifikant unter den Durchschnittsgehalten der Kontrolltiere mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode (G II:  $15,0 \pm 6,4$  mg/ml;  $p < 0,05$ ).

Etwas andere Verhältnisse waren beim IgM zu beobachten. Die Probanden, die nicht nur an einer komplikationsbehafteten Geburt litten, sondern zusätzlich noch eine Störung in der Zeit nach dem Partus ausbildeten, wiesen intrapartale IgM-Titer (G III:  $3,1 \pm 2,0$  mg/ml) auf, die sich im Konzentrationsbereich der arithmetischen Mittelwerte der Kontrollgruppe befanden (G II:  $3,7 \pm 2,5$  mg/ml) und nicht darunter, wie dies beim IgG der Fall war. Es gab keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen diesen Gruppen. Dieses Phänomen war unabhängig von der Art der geleisteten Geburtshilfe (KGH oder Sectio caesarea) zu beobachten gewesen.

Durch die vorliegende Studie konnte somit der Nachweis erbracht werden, dass die IgG-Konzentrationen der Tiere mit Dystokie, welche später eine Störung in der postpartalen Periode entwickeln, schon zu Beginn der Austreibungsphase signifikant ( $p < 0,05$ ) niedriger sind als die der Kontrolltiere (Eutokie und komplikationsfreie postpartale Periode).

Ein fast gleichlautendes Ergebnis ergibt sich beim Vergleich der intrapartalen humoralen Immunglobulinkonzentration der zwei Probandenkollektive mit Dystokie und folgender ungestörter ( $n = 18$ ) und gestörter ( $n = 18$ ) frühen postpartalen Phase. Kommt es bei Milchrindern nach einer Dystokie zu Komplikationen in der postpartalen Periode sind die durchschnittlichen intravasalen IgG- und IgM-Gehalte nicht nur in der Zeit nach dem Partus sondern bereits intra partum (G III) um 40,1 % (IgG:  $9,9 \pm 7,3$  mg/ml) respektive um 27,5 % (IgM:  $3,1 \pm 2,0$  mg/ml) erniedrigt im Vergleich zu den Probanden nach komplikationsbehafteter Geburt und ungestörter postpartaler Periode (IgG:  $16,5 \pm 11,1$  mg/ml,  $p < 0,05$ ; IgM:  $4,3 \pm 3,4$  mg/ml,  $p < 0,05$ ). Dies bedeutet, dass die Differenzen bereits vor jeglicher geburtshilflichen Manipulation, und somit auch vor dem möglichen Keimeintrag sub partu in das Uteruslumen (Bostedt et al., 1979; Sobiraj et al., 1987) gegeben sind.

Diese Ergebnisse lassen vielmehr den Schluss zu, dass sich im Falle einer Dystokie bereits intra partum ein Zusammenhang zwischen den intrapartal intravasalen Immunglobulinkonzentrationen und dem Verlauf der postpartalen Periode andeutet. Dies würde bedeuten, dass bei einem, im Vergleich zu den ohnehin schon niedrigen Normwerten der Kontrollgruppe, noch weiter gemindertem intravasalem Immunglobulingehalt intra partum die Wahrscheinlichkeit erhöht ist, dass das Tier an einer postpartalen Störung



erkrankt. Über einen anderen Weg kamen Lona et al. (2001) zu fast ähnlichen Zusammenhängen, die jedoch in deren Arbeit nicht näher diskutiert wurden. Diese Autoren beschreiben eine Koinzidenz zwischen dem Vorkommen einer Nachgeburtshaltung und einem erniedrigten kolostralen Immunglobulingehalt. Ergebnis deren Studie ist, dass die Immunglobulinkonzentration im Erstgemelk bei Rindern mit einer Retentio secundinarum mit  $7,58 \pm 6,72$  g/l signifikant niedriger liegt als bei Kühen ohne Retinierung der Secundinae ( $15,13 \pm 8,56$  g/l).

Die Interpretation dieser parallelen Feststellung auf verschiedener Ebene könnte wie folgt lauten: Da die Lösung der Nachgeburt ebenfalls als ein immunologischer Vorgang zu betrachten ist (Gunnink, 1984), ist es möglich, dass der schon sub partu deutlich erniedrigte Immunglobulingehalt mit als Ursache des verzögerten Abgangs der Nachgeburt anzusehen ist. Der maternale Organismus muss die Plazenta post partum als fremd erkennen, um diese attackieren und abstoßen zu können (Gunnink, 1984). Ein im Vergleich zur Kontrollgruppe noch stärker verminderte humoraler IgG- und IgM-Gehalt sub partu, als Ausdruck einer verminderten Immunkompetenz bei den Probanden mit Dystokie, die in der Folge eine postpartale Störung aufwiesen, könnte somit eine mangelhaften Lösung der Kotyledonen von den Karunkeln mit bedingen. Bereits Kimura et al. (2002) vermuteten als mögliche Ursache einer Retentio secundinarum eine verminderte Aktivität der Lymphozyten bereits im antepartalen Abschnitt (von 15 Tagen a.p.), die sich bis zur Geburt fortsetzte. Durch die Ergebnisse der vorliegenden Studie kann sich dieser Annahme angeschlossen werden. Dies würde auch erklären, weshalb sich die uterine Bakterienbelastung nach einer Dystokie deutlich vergrößert, wenn es zusätzlich zu einer Retinierung der Secundinae kommt (Sobiraj et al., 1987). Die geschwächten Abwehrmechanismen sind in diesem Falle wahrscheinlich nicht in der Lage, die Infektionserreger adäquat zu eliminieren, wodurch sich diese vermehren können. Dies bedeutet, dass der erhöhte, fortwährende Keimgehalt bei Tieren nach Dystokie und Retinierung der Secundinae (Sobiraj et al., 1987) eine enorme Belastung für den maternalen Organismus darstellt. Allen Resultaten der eigenen Studie nach ist dieser aber nicht die Ursache der reduzierten humoralen Immunglobulingehalte, sondern ein Folge davon. Typisch bei dieser Art von Patienten ist auch, dass trotz intensiver Therapie mit Antibiotika keine Keimfreiheit des Uteruslumens in bemessener Zeit zu erreichen ist. Vielmehr kommt es rasch zu Resistenzen die einen Wechsel des Antibiotikums notwendig machen (Bostedt et al., 1979). Es muss also nach Wegen gesucht werden, die körpereigenen Abwehrkräfte zu

stärken, um so den Heilungsprozess in der postpartalen Periode bei dieser Patientengruppe zu beschleunigen.

Auffällig war jedoch noch ein anderer Umstand. Bei Kühen mit Dystokie und folgender gestörter postpartaler Periode ( $n = 18$ ) sind zwei Verlaufsformen hinsichtlich dieser Zeit nach dem Partus zu erkennen. Bei einem Teil der Tiere ( $n = 9$ ) beschränkte sich die Störung p.p. auf die Retinierung der Secundinae ohne nennenswerten Allgemeinstörungen. Es fielen nur vereinzelt ( $n = 2$ ) subklinische Euterentzündungen auf. Die anderen Probanden ( $n = 9$ ) litten neben einer Retentio secundinarum zusätzlich an schwerwiegenden Beeinträchtigungen des Allgemeinbefindens, die teilweise hoch fieberhaft (puerperale Toxämie / Septikämie) und mit allgemeiner Apathie, Futterverweigerung, Milchrückgang, subakut larvierter Mastitis, Stoffwechselstörungen, Retinierung von Lochien oder manifester postpartaler Endometritis verbunden waren. Im Weiteren wurde der Frage nach der eventuellen Ursache dafür nachgegangen. In diesem Zusammenhang wurde das Probandenkollektives mit Dystokie und Störungen danach in zwei Untergruppen unterteilt, und zwar nach dem Schweregrad des Verlaufes der postpartalen Periode (*siehe Tab. 6 und 7 Anhang*). Interessant dabei ist, dass bei den Ruminanten mit diesen lebensbedrohlichen Verlaufsformen ( $n = 9$ ) auch die signifikant niedrigsten intrapartalen (G III) IgG- ( $8,1 \pm 8,5$  mg/ml;  $p < 0,05$ ) und IgM-Konzentrationen ( $2,3 \pm 1,6$  mg/ml;  $p \leq 0,05$ ) im Blut gemessen wurden (Kontrollgruppe G II: IgG:  $15,0 \pm 6,4$ ; IgM:  $3,7 \pm 2,5$ ). Im Gegensatz dazu konnten bei den Probanden, bei denen ausschließlich die Nachgeburt nicht zeitgerecht abging, aber keine weiteren allgemeinen Störungen vorlagen, zu diesem Zeitpunkt höhere humorale IgG- ( $11,6 \pm 5,9$  mg/ml) und IgM-Konzentration ( $3,4 \pm 2,2$  mg/ml) gemessen werden (Kontrollgruppe G II: IgG:  $15,0 \pm 6,4$ ; IgM:  $3,7 \pm 2,5$ ). Die Bewertung dieser Ergebnisse lässt sich besser gemeinsam mit den Resultaten aus der gesamten postpartalen Periode dieser Gruppen diskutieren.

Unabhängig von der Art der assistierten Geburt (KGH oder Sectio caesarea) war bei den Tieren, die nach einer komplikationsbehafteten Geburt eine gestörte postpartale Periode ohne schwerwiegenden Störungen des Allgemeinbefindens hatten (G III:  $11,6 \pm 5,9$  mg/ml) im Verlauf zwar auch ein Anstieg der intravasalen IgG-Konzentrationen bis zum zehnten Tag p.p. ( $19,1 \pm 8,2$  mg/ml) zu verzeichnen, was in Parallelität zur Eutokiegruppe (G II:  $15,0 \pm 6,4$ ; zehnter Tag p.p.:  $27,7 \pm 9,2$ ) und zur Probandengruppe mit Dystokie und ungestörter postpartaler Periode steht (G III:  $16,5 \pm 11,1$ ; zehnter Tag p.p.:  $19,0 \pm 12,6$ ). Allerdings war dieser wesentlich verhaltener. Die IgM-Gehalte der Tiere dieses Probandenkollektives

verharreten dagegen nahezu konstant auf niedrigem Level zwischen 3,5 und 5,5 mg/ml und lagen somit im Konzentrationsbereich der Kontrolltiere, aber dennoch unter den Gehalten der Kühe nach Dystokie und ungestörter postpartaler Periode (4,5 bis 6,5 mg/ml; *Tab. 6 und 7 Anhang*). Jedoch konnten diese Differenzen nicht statistisch gesichert werden ( $p > 0,05$ ).

Eine gänzlich andere Entwicklung war bei den IgG- und IgM-Konzentrationen der Tiere nach Dystokie und gestörter postpartaler Periode in Verbindung mit schweren Allgemeinstörungen zu beobachten gewesen. Die intravasalen Immunglobulingehalte dieser Probanden stagnierten bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes (IgG:  $8,8 \pm 10,8$ ; IgM:  $2,5 \pm 1,9$ ) auf einem äußerst niedrigen Niveau, welches bereits im Stadium II der Geburt vorlag (IgG:  $8,1 \pm 8,5$ ; IgM:  $2,3 \pm 1,6$ ; *Tab. 6 und 7 Anhang*). Die Werte bewegten sich im gesamten postpartalen Zeitraum bis zum zehnten Tag deutlich unter den Gehalten, die bei den Kontrolltieren gemessen werden konnten ( $p < 0,01$ ).

Diesen Resultaten nach ist es offensichtlich so, dass Milchrindern, die bereits zum Geburtszeitpunkt minimalste Immunglobulinausstattungen haben, nicht nur nicht fähig sind, die Nachgeburt zeitgerecht auszustoßen, sondern es bei diesen Tieren zusätzlich zu einer Auswanderung der Keime aus dem Uterus ins Blut und somit zur Generalisierung kommen kann. Die biologisch vorgegebene Immunsuppression unterliegt in diesen Fällen bereits intra partum einer weiteren Absenkung in einen bedenklichen Bereich, wobei nun eine wahre insuffiziente Immunlage zu bestehen scheint. Sie ist dann nicht mehr in der Lage, dem Infektionsdruck stand zu halten. Hierdurch sind die bereits beschriebenen septisch-toxischen Verläufe im Zeitraum nach dem Partus bei einigen der Probanden mit Dystokie zu begründen, während es bei anderen Tieren lediglich zur Retinierung der Secundinae kam. Augenscheinlich ist es daher so, dass der intrapartale Immunglobulinstatus ein bestimmender Faktor für den Verlauf der postpartalen Periode ist.

Als Grund für die bereits zum Zeitpunkt des Partus stark reduzierten intravasalen IgG- und IgM-Konzentrationen bei den Tieren mit Dystokie und folgender krankhaft verlaufender postpartaler Periode ist sicherlich nicht das komplikationsbehaftete Geburtsgeschehen im Sinne eines physikalisch-mechanischen Prozesses anzusehen. Dies ist ein spontan eintretendes, zeitlich eng begrenztes Ereignis, welches unabhängig vom intrapartalen Immunglobulinstatus abläuft. Es sollten daher die Ergebnisse nicht in dem Sinne interpretiert werden, dass der humorale IgG- und/oder IgM-Level i.p ausschlaggebende Faktoren für den

Verlauf der Geburt darstellen würden. Vielmehr ist anzunehmen, dass die Ursachen für die bei den Tieren mit Dystokie und gestörter postpartaler Periode im peripartalen Bereich deutlich erniedrigten Immunglobulingehalte in der Zeit davor liegen. Bei diesen Tieren muss es also bereits ante partum zu einer äußerst rasanten Absenkung der intravasalen IgG- und IgM-Gehalte kommen. Ausdruck dessen sind die minimalsten Werte, die zu messen waren. So wies der Proband K 4 einen intrapartalen IgG-Titer von 0,24 mg/ml auf. Insgesamt waren es in dieser Gruppe drei Tiere (K 3, K 4, S 2), bei denen zum Geburtszeitpunkt ähnlich stark reduzierte IgG-Konzentrationen nachgewiesen werden konnten.

Durch die Resultate dieser Dissertationsschrift kann die These aufgestellt werden, dass es möglicherweise schon präpartal zu Prozessen, entweder zu keimbelasteten Vorgängen, die nicht genital assoziiert sein müssen, und/oder zu Veränderungen des Metabolismus, die eine Reduzierung der Syntheserate der Immunglobuline bedingen würden, kommt. Dies hätte zum einen eine verminderte Bildungsrate zur Folge und würde zum anderen das Immunsystem durch einen erhöhten Verbrauch an Antikörpern zusätzlich belasten. Dieser Ursachenkomplex könnte zu einer noch stärkeren Absenkung der humoralen Immunglobulintiter führen, welche sich bis zum Geburtszeitpunkt fortsetzt. In der Folge wäre es dann so, dass bei diesen Milchkühen bereits sub partu eine insuffiziente Immunlage vorläge, die nicht nur eine Retinierung der Secundinae sondern zusätzlich eine Infektion in der Zeit nach dem Partus begünstigt, wie dies bei einigen Studientieren der Fall war. Die Frage, wo die Bedenklichkeitsgrenze für die IgG- und IgM-Titer im Blut des Milchrindes liegt, bleibt dabei momentan offen.

Die breit angelegte Untersuchung zum humoralen Immunglobulinstatus bei Milchrindern im peripartalen Zeitraum unter Berücksichtigung intra- und postpartaler Komplikationen hat einige interessante Ergebnisse gebracht.

Die präpartale (IgG vom siebten und IgM vom Ende des achten Monates der Gestation bis zum Partus) Reduktion der intravasalen IgG- und IgM-Konzentrationen scheint ein „biologisches Phänomen“ im letzten Trimester der Gravidität bei Milchrindern der Rasse HF SB und HF RB in Folge eines komplexen Zusammenspiels mehrerer physiologischer Prozesse darzustellen. Der Abfall der IgG- und IgM-Titer im Blut war dabei positiv mit der Abnahme der Lymphozyten korreliert ( $p < 0,05$ ). Als Hauptursache für die Reduktion der

humoralen Immunglobulingehalte ist die Umkompartimentierung des intravasalen IgG's ins Euter zu nennen, um ein gehaltvolles Kolostrum zu bilden, wobei die Höhe der Abnahme des IgG's im Blut mit dessen kolostralem Gehalt in Verbindung steht ( $r = 0,56$ ;  $p = 0,016$ ). Bemerkenswert ist, dass keinerlei Beziehung zwischen den antepartalen Immunglobulinverschiebungen und dem Kortisollevel bestand ( $p > 0,05$ ).

Weiterhin konnten andere Faktoren benannt werden, die in Beziehung zu diesem Phänomen zu stehen scheinen. Der antepartale Abfall der IgG- und IgM-Titer im bovinen Blut wird möglicherweise zusätzlich durch eine verminderte Produktion der Antikörper auf Grund der Abnahme der zirkulierenden Schilddrüsenhormone verstärkt. Die Verminderung der  $T_3$ -,  $fT_3$ -,  $T_4$ -, und  $fT_4$ -Konzentrationen in der Trockenstehperiode könnten der Grund für eine Reduktion der „turn-over“-Rate sein und somit den Proteinmetabolismus mindern, wodurch keine optimalen Bedingungen für eine maximale Immunglobulinsynthese bestünden. Diese antepartal festgestellte Korrelation zwischen den zeitlichen Veränderungen der Schilddrüsenhormone und den der intravasalen Immunglobuline war in den ersten vier Wochen p.p. offenbar nicht mehr von Bedeutung.

Von klinischer Relevanz ist das Resultat, dass das absolute Minimum der humoralen IgG- und IgM-Gehalte bei Kühen sub partu zu verzeichnen ist. In diesem Zusammenhang ist anzugeben, dass dieses Phänomen des Milchrindes möglicherweise durch deren biologische Hypokalzämiephase verstärkt wird. Auf Grund des hohen Bedarf an ionisiertem Kalzium sub partu (Kontraktion des Myometriums und die beginnende Laktation) kommt es zu einer Erniedrigung des intravasalen und auch intrazellulären Kalziumspiegels. Dieses ionisierte Kalzium in den Zellen wird jedoch als „second messenger“ bei der Signaltransduktion und somit zur Aktivierung benötigt. Dadurch ist die Anregung der Proliferation der Lymphozyten (Kimura et al., 2006), den Vorläufern der immunglobulinproduzierenden Plasmazellen reduziert. Denkbar wäre, dass dadurch auch die Bildung der Antikörper (IgG und IgM), zumindest unter dem Geburtsgeschehen und kurze Zeit danach, vermindert ist.

Im Weiteren konnte nachgewiesen werden, dass es post partum zu einer Stagnation der intravasalen IgG-Konzentration bis zum siebten Tag p.p. kommt. Erst danach war wieder ein Anstieg bis zur vierten Woche p.p. zu verzeichnen. Zu diesem Zeitpunkt entsprachen die IgG-Werte wieder denen, die in der achten Woche a.p. zu messen waren. Diese Zunahme der intravasalen IgG-Gehalte war von einer Erhöhung der Lymphozytenzahl begleitet. Die

humoralen IgM-Gehalte verharrten dagegen bis zur vierten Woche p.p., dem Ende des Untersuchungszeitraumes, auf einem relativ konstant niedrigen Niveau zwischen 3,5 mg/ml und 5,0 mg/ml. In Analogie zum letzten Trimester der Gravidität standen auch die Konzentrationsveränderung dieser Parameter in keinerlei Verhältnis zum humoralen Kortisolspiegel ( $p > 0,05$ ).

Diese kortisolunabhängige labile Phase des Immunsystems im peripartalen Zeitraum des Milchrindes, welche mindestens von der achten Woche a.p. bis zur vierten Woche post partum andauerte, kann als eine mögliche Erklärung für die erhöhte Infektanfälligkeit in dieser Periode dienen.

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die postpartale Periode nach einer Dystokie nur dann störungsfrei verlief, wenn die intravasalen Immunglobulinkonzentrationen im physiologischen Bereich der Kontrolltiere (Eutokie und komplikationsfreie postpartale Periode) lagen. Waren dagegen die IgG- und IgM-Gehalte bereits intra partum erheblich reduziert (bis zu 46,0 %), zog dies bei diesen Tieren nach einer assistierten Geburt eine Störung in Form einer Retentio secundinarum, postpartalen Toxämie sowie Septikämie, Mastitis oder einer Endometritis nach sich. Die schon biologisch vorgegebene Immunsuppression unterlag in diesen Fällen, unabhängig von der Art der geleisteten Geburtshilfe (konservative Geburtshilfe oder Sectio caesarea) bereits intra partum einer weiteren Absenkung in einen bedenklichen Bereich, wobei eine wahre insuffiziente Immunlage bestand.

## 6. Zusammenfassung

Die Krankheitsinzidenz beim Milchrind im peripartalen Zeitraum ist so hoch wie bei keinem anderen landwirtschaftlich genutzten Tier. Immer wieder wird angeführt, dass diese Krankheitshäufigkeit in Zusammenhang mit einer Immunsuppression in der peripartalen Periode steht, ohne dass dafür bislang ausreichende, basisorientierte Nachweise erbracht worden wären.

Daher war es das Ziel dieser Studie, die Beziehungen zwischen dem Geburtsgeschehen und des folgenden postpartalen Verlaufes zum humoralen Immunglobulin G- und Immunglobulin M- Spiegel bei Milchrindern zu überprüfen, sowie die Fragestellung nach der Variation des humoralen Immunglobulinstatus in Abhängigkeit von Geburtsgeschehen, Alter und Leistungsstadium intensiver zu eruieren.

In die Studie wurden die Daten von 57 Milchrindern einbezogen, von denen 21 ohne und 36 mit Komplikationen (mittelschwere bis schwere konservative Geburtshilfe (KGH) oder Sectio caesarea) geboren hatten. Das Probandenkollektiv bestand ausschließlich aus Milchrindern der Rasse HF SB, HF RB und DFV im Alter zwischen zwei und neun Jahren (1. bis 6. Geburt). Die Graviditätsdauer lag bei allen Muttertieren im physiologischen Bereich von  $285 \pm 10$  Tagen. Während die Kühe der eutokischen Gruppe bereits antepartal (letztes Trimester der Gravidität) zur Verfügung standen und in der Zeit zwischen der achten Woche a.p. und dem 28. Tag p.p. beprobt werden konnten, liegen von Tieren mit einem dystokischen Geschehen (hierbei handelt es sich um Akutpatienten, die zur Geburtshilfe überwiesen wurden) die Proben aus dem Intervall intra partum bis zum 10. Tag p.p. vor. Innerhalb der Gruppen mit Dystokien wurden die Kühe in jeweils zwei Untergruppen mit „ungestörter“ oder „gestörter“ postpartaler Periode unterteilt.

Die Probengewinnung durch Entnahme von Blut aus der Vena jugularis geschah in der Eutokiegruppe im Zeitraum acht Wochen bis eine Woche a.p. wöchentlich. Danach wurde diese bis zum Partus täglich durchgeführt. Weiterhin wurden bei allen Tieren (Eutokie und Dystokie) intra partum, unmittelbar post partum, 12 und 24 Stunden p.p. sowie am 2., 3., 4., 5., 7. und 10. Tag p.p. weitere Proben entnommen. Darüberhinaus erfolgten bei Kühen nach Eutokie und ungestörter postpartaler Periode weitere Blutentnahmen am 14., 21. und 28. Tag

p.p.. Unmittelbar nach Beendigung der Geburt wurde allen Probanden ein Quantum von 500 ml Kolostrum abgemolken und daraus eine Probe von 20,0 ml für die Analyse gezogen.

Die humoralen IgG und IgM-Titer sind mittels kompetitiven ELISA's bestimmt worden. Der Umstand, dass für die Messung von Immunglobulinen (IgG/IgM) ein neues und evaluiertes Verfahren auf der Grundlage eines kompetitiven ELISA zur Verfügung stand, machte es möglich, die humoralen IgG und IgM-Titer in großen Serien exakt zu bestimmen. Diese neuen ELISA's gestatten eine Messung von IgG und IgM bis in den Bereich von 0,0005 µg Protein/ml und sind damit dem sRid (radiale Immundiffusion) deutlich überlegen.

Weiterhin wurden in der Eutokiegruppe parallel zur IgG- und IgM-Bestimmung Kortisolmessungen (modifizierter  $^3\text{H}$ -Radioimmunoassay), Leukozyten- und Lymphozytenzählungen (Cell-Dyn® 3500 CS; Firma Abbott, Wiesbaden-Delkenheim) sowie Konzentrationsermittlungen der Schilddrüsenhormone ( $\text{T}_3$ ,  $\text{fT}_3$ ,  $\text{T}_4$ ,  $\text{fT}_4$ ; Chemiluminescence Assay, Chiron Diagnostics ACS: 180, Ciba Corning Diagnostic GmbH, Fernwald) durchgeführt.

Es wurde nachgewiesen, dass es beim Milchrind zwischen der achten Woche a.p. und dem Partus zu einem rapiden Abfall der intravasalen IgG-Konzentration von durchschnittlich  $36,8 \pm 11,6$  mg/ml auf  $15,0 \pm 6,4$  mg/ml kommt (- 59,2 %;  $p < 0,001$ ). Als Hauptursache für die Reduktion ist die Umkompartimentierung des intravasalen IgG's ins Euter zu nennen, um ein gehaltvolles Kolostrum zu bilden. Die Höhe der Abnahme des IgG's im Blut steht mit dessen kolostralem Gehalt in enger Korrelation ( $r = 0,56$ ;  $p = 0,016$ ). Post partum folgte eine kurzfristige Periode (bis zum Ende der ersten Woche p.p.), in der die humoralen Konzentrationen auf erniedrigtem Niveau verharrten. Erst danach war wieder eine Zunahme zu registrieren ( $p < 0,001$ ), wobei die IgG-Werte der vierten Woche p.p. ( $36,2 \pm 9,9$  mg/ml) denen entsprachen, die am Ende des siebten Monates der Gravidität gemessen werden konnten.

Eine etwas andere Situation war bei den intravasalen IgM-Konzentrationen gegeben. Diese blieben, im Gegensatz zu denen des IgG, zwischen Ende des 7. Monats und Ende des 8. Monats der Gravidität relativ konstant (6 bis 7 mg/ml), um erst vier Wochen a.p. bis zum Partus von  $7,7 \pm 5,3$  mg/ml auf  $3,7 \pm 2,5$  mg/ml abzufallen ( $p < 0,001$ ). Eine Beziehung zwischen der antepartalen Reduktion im Plasma und dem IgM-Gehalt im Kolostrum ließ sich, konträr zum IgG, nicht nachweisen ( $r = - 0,05$ ;  $p = 0,86$ ). Im weiteren Verlauf verweilten die



humoralen IgM-Werte bis zur vierten Woche p.p. auf einem niedrigem Level zwischen 3,5 und 5,0 mg/ml ( $p > 0,05$ ).

Von klinischer Relevanz ist, dass das absolute Minimum der humoralen IgG- und IgM-Gehalte bei Kühen sub partu zu verzeichnen ist.

Weiterhin konnte nachgewiesen werden, dass die Reduktionen der humoralen IgG- und IgM-Werte in der Trockenstehperiode (IgG:  $36,8 \pm 11,6$  mg/ml auf  $15,0 \pm 6,4$  mg/ml; IgM:  $7,7 \pm 5,3$  mg/ml auf  $3,7 \pm 2,5$  mg/ml) signifikant mit der Abnahme der Lymphozyten- (achte Woche a.p.:  $2,9 \pm 1,0$  G/l; Partus:  $2,3 \pm 0,8$  G/l) sowie der  $T_4$ - (achte Woche a.p.:  $4,8 \pm 1,7$  µg/dl; Partus:  $2,4 \pm 0,7$  µg/dl) und  $fT_4$ -Konzentrationen (achte Woche a.p.:  $1,05 \pm 0,26$  ng/dl; Partus:  $0,62 \pm 0,15$  ng/dl) in diesem Zeitraum kreuzkorreliert sind ( $p < 0,05$ ). Diese antepartal festgestellten Korrelationen zwischen den zeitlichen Veränderungen der Schilddrüsenhormone und den der intravasalen Immunglobuline war in den ersten vier Wochen p.p. offenbar nicht mehr von Bedeutung ( $p > 0,05$ ). Lediglich die postpartale Zunahme der humoralen IgG-Gehalte bis zur vierten Woche ( $15,0 \pm 6,4$  mg/ml auf  $36,2 \pm 9,9$  mg/ml) war von einer Erhöhung der Lymphozytenzahl ( $2,3 \pm 0,8$  G/l auf  $2,5 \pm 1,2$  G/l) begleitet ( $r = 0,14$ ;  $p = 0,01$ ).

Zusätzlich ist dargestellt worden, dass keine Beziehung zwischen der Konzentrationsänderung der Immunglobuline und den bis zur Geburt konstanten Kortisolwerten bestand. Einzig sub partu konnte eine negative Beziehung ( $r = - 0,26$ ) zwischen den Parametern festgestellt werden ( $p < 0,01$ ). Im gesamten postpartalen Verlauf bis zur vierten Woche standen die Entwicklungen der intravasalen IgG- und IgM-Titer wiederum in keinem Verhältnis zum humoralen Kortisolspiegel.

Auf Grund der vorgelegten Ergebnisse ist anzunehmen, dass der antepartale Abfall der IgG- und IgM-Konzentration bei Milchkühen mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode in der Zeit vom Ende des siebten (IgG) respektive Ende des achten Monates (IgM) der Gestation bis zum Partus, sowie die daraus resultierenden erniedrigten humoralen Immunglobulingehalte im peripartalen Abschnitt ein „biologisches Phänomen“ darstellen.

Im weiteren wurde untersucht, welche Immunitätslage bei Milchkühen gegeben ist, die eine komplikationsbehaftete Geburt durchliefen und danach entweder eine ungestörte oder gestörte

postpartale Periode (Retentio secundinarum mit damit verbundener Mastitis, postpartale Toxämie sowie Septikämie) aufwiesen.

In diesem Zusammenhang ist die Erkenntnis von Interesse, dass die postpartale Periode nach einer assistierten Geburt (KGH oder Sectio caesarea) dann komplikationslos verlief, wenn das IgG- und IgM-Niveau im oder nur knapp unter dem physiologischen Bereich der Tiere mit Eutokie und komplikationsfreier postpartaler Periode lagen. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die postpartale Periode bei Rindern nach Dystokie (KGH oder Sectio caesarea) in der Regel mit genital assoziierten Krankheiten verbunden war, wenn bereits die intrapartalen Immunglobulinkonzentrationen signifikant ( $p < 0,05$ ) niedriger als bei den Probanden mit komplikationsbehafteter Geburt und nachfolgender ungestörter postpartaler Periode lagen. Dieser Umstand trat unabhängig von der Art der geleisteten Geburtshilfe (KGH oder Sectio caesarea) auf. Im weiteren postpartalen Verlauf verweilten die Immunglobulinkonzentrationen dieser Rinder nach Dystokie mit gestörter postpartaler Periode sowohl sichtlich unter denen der Milchkühe nach Eutokie und ungestörter postpartaler Periode ( $p < 0,05$ ) als auch unter denen der Rinder nach assistierter Geburt mit ungestörter postpartaler Periode ( $p < 0,05$ ).

Die vorgelegte Studie gibt deutliche Hinweise darauf, dass es bei Milchrindern der Rasse HF SB, HF RB und DFV mehrere Wochen vor der Geburt zu einer Absenkung der intravasalen IgG- und IgM-Konzentration kommt. Die Geburt selbst findet unter minimiertem humoralem Antikörpergehalt statt. Eine extreme Absenkung der Immunglobulintiter im Blut hatte im Falle einer Dystokie zur Folge, dass bei diesen Kühen die postpartale Periode mit schweren Störungen verlief. Dies kann als Ausdruck der bereits intrapartal existenten insuffizienten Immunlage interpretiert werden.

## 7. Summary

In dairy cattle the incidence of diseases during the periparturient period is markedly higher than in any other productive livestock. This high frequency of afflictions is often referred to as a result of an immunosuppression in the periparturient period, although there is no sufficient up to date.

Therefore, the objectives of this study were to examine the relationships between the process of parturition as well as the following postpartal period with the humoral immunoglobulin G- and immunoglobulin M-titres in dairy cattle. Additionally, the variation of immunoglobulin levels in the blood subject to process of parturition, age and performing stage were determined.

The study includes the data of 57 dairy cows. Out of these 57 animals, 21 cows had an eutocia and 36 cows had a dystocia (resulting in moderate to severe conservative birth assistance (KBA) or caesarian section). All animals were Holstein cows aged between two and nine years (1. to 6. parturition). The duration of pregnancy in all cows averaged  $285 \pm 10$  days. Blood samples from cows of the group with eutocia could already be taken in the antepartal period (third trimester of gravidity). Whereas the samples from animals with dystocia (these were patients, who were transferred for obstetrics) were taken only intra partum up to the tenth day p.p. The group of patients with dystocia was further divided into two sub-groups, with „undisturbed“ or „disturbed“ postpartale period.

In the group with eutocia blood samples were taken weekly from the jugular vein. The sampling period started eight weeks a.p. and lasted until parturition. During the last week a.p. the samples were taken daily. Additionally, all animals (eutocia and dystocia) were sampled as well intra partum, immediately after parturition, 12 and 24 hours p.p. as on the 2nd, 3rd, 4th, 5th, 7<sup>th</sup> and 10th day p.p.. In cows with eutocia and unimpaired postpartal period, more blood sampling points took place at day 14, 21 and 28 post partum from. Immediately after parturition, 500 ml of colostrum were milked and a sample of 20,0 ml was transferred into analysis.

The humoral IgG- and IgM-concentrations were measured by using new competitive ELISA's. A new and evaluated procedure for the measurement of immunoglobulins (IgG/IgM) on the basis of a competitive ELISA made it possible to determine the humoral IgG- and IgM-titres in large series accurately. This new ELISA tests permits a measurement of IgG and IgM at a very low level; i.e. 0,0005 µg protein/ml and therefore, clearly outranges sRid (radial immunodiffusion).

In the group with eutocia additional measurements of the concentrations of cortisol (modified <sup>3</sup>H-Radioimmunoassay), leukocytes, lymphocytes (Cell Dyn® 3500 CS; Abbott Company, Wiesbaden-Delkenheim) and the thyroid hormones (T<sub>3</sub>, fT<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, fT<sub>4</sub>; Chiron Diagnostics ACS: 180, Ciba Corning Diagnostic GmbH, Fernwald) were done simultaneously to the determination of IgG- and IgM.

It could be shown that there is a rapid decline of the intravascular IgG-concentration in dairy cattle between week eight a.p. ( $36.8 \pm 11.6$  mg/ml) and parturition ( $15.0 \pm 6.4$  mg/ml (-59.2%;  $p < 0.001$ )). The main reason for this reduction is a compartmentalization of the intravascular IgG's into the udder in order to constitute a good foremilk. The degree of the IgG depression in blood is correlated with its colostral content ( $r = 0.56$ ;  $p = 0.016$ ). Post partum, a short term period (up to the end of the first week p.p.) of remaining declined humoral concentrations could be determined. Afterwards an increase could be observed ( $p < 0.001$ ). Here, the IgG values of the fourth week p.p. ( $36.2 \pm 9.9$  mg/ml) corresponded to those measured at the end of the seventh month of gravidity.

The IgM-concentrations showed a similar developing. IgM-values remained relatively constant between the end of the 7th month and 8th month of pregnancy (6 to 7 mg/ml), whereas IgG-values declined. Four weeks a.p up to parturition the IgM-concentrations drop from  $7.7 \pm 5.3$  mg/ml to  $3.7 \pm 2.5$  mg/ml ( $p < 0.001$ ). Unlike for IgG, a correlation between the antepartal reduction of the intravascular IgM and the colostral IgM-content could not be verified ( $r = -0.05$ ;  $p = 0.86$ ). In the sequel the humoral IgM-values remained on the mentioned low levels between 3,5 and 5,0 mg/ml ( $p > 0.05$ ) up to the fourth week p.p..

It is of clinical relevance that the absolute minimum of the humoral IgG- and IgM-concentrations is registered in dairy cows sub partu.

Furthermore it could be shown that the decline of humoral IgG- and IgM-titres in the dry period (IgG:  $36,8 \pm 11.6$  mg/ml to  $15,0 \pm 6.4$  mg/ml; IgM:  $7,7 \pm 5.3$  mg/ml to  $3,7 \pm 2.5$  mg/ml) is correlated significantly ( $p < 0.05$ ) with the decrease of lymphocytes (week eight a.p.:  $2,9 \pm 1.0$  G/l; Partus:  $2,3 \pm 0.8$  G/l),  $T_4$ - (week eight a.p.:  $4,8 \pm 1.7$   $\mu$ g/dl; Partus:  $2.4 \pm 0.7$   $\mu$ g/dl) and f $T_4$ -concentrations (week eight a.p.:  $1,05 \pm 0.26$  ng/dl; Partus:  $0,62 \pm 0.15$  ng/dl). Obviously, this antepartal correlation between the temporal changes of the thyroid hormones and those of the intravascular immunoglobulins was of no importance during the first four weeks post partum ( $p > 0.05$ ). Merely the postpartal increase of the humoral IgG-contents up to the fourth week ( $15.0 \pm 6.4$  mg/ml to  $36,2 \pm 9.9$  mg/ml) was accompanied ( $r = 0,14$ ;  $p = 0.01$ ) by an increment of the lymphocytes ( $2,3 \pm 0.8$  G/l to  $2,5 \pm 1.2$  G/l).

Additionally, it could be demonstrated that there is no correlation between the changes of immunoglobulinconcentrations and the cortisol values remaining constantly up to birth. Merely sub partu, a negative correlation ( $r = - 0.26$ ) between the parameters could be determined ( $p < 0.01$ ). In the entire postpartal process up to the fourth week p.p. the developments of the intravascular IgG- and IgM-titers were also not related to the humoral level of cortisol.

Due to these results, it has to be assumed that the antepartal decline of IgG- and IgM-concentrations in dairy cattle with eutocia and undisturbed postpartal period from the end of the seventh (IgG) respectively end of the eighth month (IgM) of gravidity up to parturition as well as the degraded humoral immunoglobulintitres in the peripartal period represent a “biological phenomenon”.

Furthermore, the constitution of the immune system in dairy cattle with dystocia and either an unimpaired or disturbed postpartal period (retained fetal membranes with associated mastitis, postpartal toxicaemia as well as septicaemia) was examined.

In this regard, it is of interest that the postpartal period after an assisted birth (KBA or caesarian section) proceeds without complications if the IgG- and IgM-levels were in or only scarcely under the physiological range of the animals with eutocia and undisturbed postpartal period. Furthermore, it could be shown that the postpartal period in dairy cattle with dystocia (KBA or caesarian section) usually correspondend with genitally associated diseases in the

---

instance that already the intrapartal immunoglobulinconcentrations had been significantly ( $p < 0.05$ ) lower than those from dairy cattle with dystocia and following unimpaired postpartal period. This circumstance occurred independently from the kind of performed obstetrics (KBA or caesarian section). In the further postpartal process, the immunoglobulinconcentrations of these cows after dystocia with disturbed postpartal period distinctly remained under both those of dairy cattle after eutocia and unimpaired postpartal period ( $p < 0.05$ ) and under those of cows after assisted birth with undisturbed postpartal period ( $p < 0.05$ ).

This study shows that there is a decline of the intravascular IgG- and IgM-concentrations in dairy cattle (Holstein cows) several weeks before parturition. Birth takes place under minimized humoral antibody content. In cases of dystocia the extreme drop of the immunoglobulintitres in blood causes severe disturbances of the following postpartal period of these cows. This can be interpreted as a result of the already intrapartally existing insufficient immune status.

Abraham, G.E.; Buster, J.E.; Teller, R.C. (1972):  
Radioimmunoassay for plasma cortisol.  
Anal. Lett. 5: 757

Andrews, A.H. (1985):  
Immunoglobulin testing of calves in market.  
Vet. Rec. 116: 580

Arbeiter, K. (1973):  
Sterilitätsprophylaxe – eine Möglichkeit zur Bekämpfung der Herdensterilität.  
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 80: 565-568

Aschaffenburg, R. (1949):  
The nutritive value of colostrum for the calf. III. Changes in the serum protein of the newborn calf following the ingestion of small quantities of the non-fatty fraction.  
Br. J. Nutr. 3: 200-204

Awadeh, F.T.; Kincaid, R.L.; Johnson, K.A. (1998):  
Effect of level and source of dietary selenium on concentrations of thyroid hormones and immunoglobulins in beef cows and calves.  
J. Anim. Sci. 76: 1204-1215

Banks, K.L. (1982):  
Host defence in the newborn animal.  
J. Am. Vet. Med. Ass. 181: 1053-1056

Barber, D.M.L. (1978):  
Serum immune globulin status of purchased calves: An unreliable guide to viability and performance.  
Vet. Rec. 102: 418-420

Barnouin, J.; Chassagne, M. (1991):  
An aetiological hypothesis for the nutrition-induced association between retained placenta and milk fever in the dairy cow.  
Ann. Rech. Vet. 22: 331-343

Barrington, G.M.; Besser, T.E.; Davis, W.C.; Gay, C.C.; Reeves, J.J.; McFadden, T.B. (1997):  
Expression of immunoglobulin G1 receptors by bovine mammary epithelial cells and mammary leukocytes.  
J. Dairy Sci. 80: 86-93

Beckett, G.J.; Nicol, F.; Rae, P.W.; Beach, S.; Guo, Y.; Arthur, J.R. (1987):  
Effects of combined iodine and selenium deficiency on thyroid hormone metabolism in rats.  
Am. J. Clin. Nutr. Suppl. 57: 2405-2435

Bender, P. (2004):  
Bestimmung von Immunglobulin G und Immunglobulin M im Serum neugeborener Kälber während der ersten zehn Lebenstage unter besonderer Berücksichtigung der Darmgesundheit der Probanden sowie im Kolostrum derer Mütter mittels zweier neuartiger ELISAs.  
Inaugural-Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen

Bender, P.; Bostedt, H. (2008):  
Einfluss der IgG- und IgM-Serumkonzentrationen boviner Neonaten auf die Inzidenz gastroenteraler Erkrankungen während der ersten 10 Lebenstage.  
Tierärztl. Prax. 36 (2): 73-83

Benysek, V.; Kudlac, E. (1971):  
Changes in the white blood picture of cows in the last months of pregnancy and during parturition.  
Acta Vet. Brno 40: 333-344

- Berger, G. (1989):  
Untersuchungen zur Häufigkeit von Schweregeburten beim Rind und deren Einfluss auf Puerperalverlauf und Fruchtbarkeit.  
Mh. Vet. Med. 44: 148-152
- Bernal, J.; Refetoff, S. (1977):  
The action of thyroid hormone.  
Clin. Endocrinol. 6: 227-249
- Besser, T.E.; Mc Guire, T.C.; Gay, C.C.; Pritchett, L.C. (1988):  
Transfer of functional immunoglobulin G (IgG) antibody into the gastrointestinal tract accounts for IgG clearance in calves.  
J. Virol. 62: 2234-2237
- Besser, T.E.; Gay, C.C.; Pritchett, L.C. (1991):  
Comparison of three methods of feeding colostrums to dairy calves.  
J. Am. Vet. Med. Ass. 198: 419-422
- Björckman, N.H. (1954):  
Morphological and histological studies on the bovine placentome.  
Acta Anat. 22 (suppl.): 1-99
- Bleul, U. (1998):  
Hämatologische Verlaufsuntersuchung bei Rindern intra und post partum – gleichzeitig eine Überprüfung des Hämatologieanalysesystems Cell-Dyn 3500®.  
Inaugural-Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen
- Bleul, U.; Sobiraj, A.; Bostedt, H. (2002):  
Evaluation of the Cell-Dyn 3500 Haematology Analyser for Bovine Blood.  
Comp. Clin. Path. 11: 201-210
- Blom, J.Y. (1982):  
The relationship between serum immunoglobulin values and incidence of respiratory disease and enteritis in calves.  
Nord. Vet. Med. 34: 276-284
- Bostedt, H.; Berchtold, M. (1968):  
Veränderungen der Glucosekonzentration und der Zahl der eosinophilen Leukozyten im Blut von Rindern intra und post partum.  
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 81: 243-245
- Bostedt, H. (1972):  
Der Einfluss der normalen und der gestörten Geburt auf einige klinisch-chemische feststellbare Blutparameter bei Rind und Schaf.  
Habilitationsschrift, Ludwig-Maximilian-Universität München
- Bostedt, H.; Schels, H.; Günzler, D. (1979):  
Klinische und bakteriologische Befunde am Genitaltrakt von Rindern nach gestörten Geburten in den ersten drei Wochen des Puerperiums.  
Zbl. Vet. Med. 26: 397-412
- Bostedt, H.; Schramel, P. (1981):  
Vergleichende Untersuchungen über die Selenkonzentrationen im Blutserum, in der Plazenta, im Myometrium und in der Milch von Kühen mit oder ohne Retentio secundinarum.  
Zbl. Vet. Med. 28: 529-537
- Bostedt, H. (2004):  
Morphologische und funktionelle Besonderheiten der Plazentationsformen bei Haustieren und Mensch.  
Nova Acta Leop. NF 89, Nr. 334: 13-26



- Bourne, J.; Newby, T. (1981):  
Mucosal immunity.  
In Practice 3: 5-11
- Brandon, M.R.; Watson, D.L.; Lascelles, A.K. (1971):  
The mechanism of transfer of immunoglobulin into mammary secretion of cows.  
Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 49: 613-623
- Brandon, M.R.; Lascelles, A.K. (1972):  
Relative efficiency of absorption of IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgA and IgM in the newborn calf.  
Aust. J. exp. Biol. Med. Sci. 49: 629-633
- Butler, J.E. (1969):  
Bovine immunoglobulins: A review.  
J. Dairy Sci. 52: 1895-1909
- Butler, J.E.; Kiddy, C.A.; Pierce, C.S.; Rock, C.A. (1972):  
Quantitative changes associated with calving in the levels of bovine immunoglobulins in selected body fluids.  
I. Changes in the levels of IgA, IgG<sub>1</sub> and Total Protein.  
Can. J. Comp. Med. 36: 234-242
- Butler, J.E.; Maxwell, C.F.; Pierce, C.S.; Hylton, M.B.; Asofsky, R.; Kiddy, C.A. (1972):  
Studies on relative synthesis and distribution of IgG<sub>1</sub> in various tissues and body fluids of the cow.  
J. Immunol. 109: 38-46
- Butler, J.E. (1973):  
Synthesis and distribution of immunoglobulins.  
J. Am. Vet. Med. Ass. 163: 795-800
- Cai, T.-Q.; Weston, P.; Lund, L. (1994):  
Association between neutrophil functions and periparturient disorders in cows.  
Am. J. Vet. Res. 7: 934-943
- Caldow, G.L.; White, D.G.; Kelsey, M.; Peters, A.R.; Solly, K.J. (1988):  
Relationship of calf antibody status to disease and performance.  
Vet. Rec. 122: 63-65
- Carter, G.R.; Moojen, V. (1981):  
Serologic tests used to detect common infectious diseases of animals  
Vet. Med. / Small Animal Clinician; Dez. 1981
- Casey, J.F.; Hammerman P.S.; Thompson C.B. (2005):  
Fuel feeds function: Energy metabolism and the T-Cell response  
Nature Immunol. 5: 844-852
- Clover, C.K.; Zarkower, A. (1980):  
Immunologic response in colostrum fed and colostrum deprived calves.  
Am. J. Vet. Res. 41: 1002-1007
- Comline, L.S.; Hall, L.W.; Lavelle, R.B. (1974):  
Parturition in the cow: endocrine changes in animals with chronical implanted catheters in the foetal and maternal circulation.  
Journal Endocrinol. 63: 451-472
- Comolle, C. (1958):  
Ein Beitrag zum Blutbild des Rindes zur Zeit der Geburt.  
Vet. Med. Diss., Berlin

- Conner, G.H.; La Belle, A.; Eyster, J.; Wannacott, J. (1967):  
Effect of pregnancy and age on hemogram of Holstein-Frisian cattle in a herd with no evidence of leukaemia.  
Am. J. Vet. Res. 28: 1303-1312
- Curtain, C.C.; Clark, B.L.; Dufty, J.H. (1971):  
The origins of the immunoglobulins in the mucous secretions of cattle.  
Clin. Exp. Immunol. 8: 335-344
- Curtis, M.A.; Erb, H.N.; Sniffen, C.J.; Smith, R.D.; Kronfeld, D.S. (1985):  
Path analysis of dry period nutrition, postpartum metabolic and reproductive disorders, and mastitis in Holstein cows.  
J. Dairy Sci. 68: 2347-2360
- Dawes, M.E.; Tyler, J.W.; Hostetler, D.; Lakritz, J.; Tessman, R. (2002):  
Evaluation of a commercially available immunoassay for assessing adequacy of passive transfer in calves.  
J. Am. Vet. Med. Ass. 220: 791-793
- Detilleux, J.C.; Kehrli Jr., M.E.; Stabel, J.R.; Freeman, A.E.; Kelley, D.H. (1995):  
Study on immunological dysfunction in periparturient holstein cattle selected for high and average milk production.  
Vet. Immunol. Immunopathol. 44: 251-267
- Diez-Fraile, A.; Meyer, E.; Burvenich, C. (2003):  
Sympathoadrenal and immune system activation during the periparturient period and their association with bovine coliform Mastitis. A review.  
Vet Q. 25 (1): 31-44
- Dixon, W.J. (chief editor) (1993):  
BMDP Statistical Software Manual, Volume 1 and 2  
University of California Press, Berkeley, Los Angeles, London
- Douglas, V.L.; Cullor, J.S.; Tyler, J.W.; Thurmond, M.C.; Bushnell, R.B. (1989):  
Rapid decay of serum IgG recognizing gram-negative cell wall core antigens in neonatal calves.  
Am. J. Vet. Res. 50: 1138-1140
- Duncan, J.R.; Wilkie, B.N.; Hiestand, F.; Winter, A.J. (1972):  
The serum and secretory immunoglobulins of cattle: characterization and quantitation.  
J. Immunol. 108: 965-976
- Ehlers, J.; Heuwieser, W.; Grunert, E. (1987):  
Untersuchungen über Streßbeeinflüsse beim Rind anhand von Stoffwechselfparametern post partum.  
Zuchthyg. 22: 132
- Eigenmann, U.J.; Zaremba, W.; Luetgebrune, K.; Grunert, E. (1983):  
Untersuchungen über die Kolostralaufnahme und die IgG-Absorption bei Kälbern mit und ohne Geburtsazidose.  
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 96: 109-113
- Eisenhauer, P. (1981):  
Methodisch vergleichender Nachweis von Immunglobulin G und M bei Mutterstuten und Fohlen mittels Nephelometrie und radialer Immundiffusion.  
Vet. Med. Diss., Hannover
- Elecko, J. (1964):  
Zmeny krevneho obrazu u krav v období gravidity, porodu a po porode.  
Habil. praca., Kosice

- Erb, H.N.; Smith, R.D.; Oltenacu, P.A.; Guard, C.L.; Hillman, R.B.; Powers, P.A.; Smith, M.C.; White, M.E. (1985):  
Path model of reproductive disorders and performance, milk fever, mastitis, milk yield and culling in Holstein cows.  
J. Dairy Sci. 68: 3337-3349
- Erhard, M.H.; Amon, P.; Nüske, S.; Stangassinger, M. (1999):  
Studies on the systemic availability of maternal and endogenously produced immunoglobulin G1 and G2 in newborn calves by using newly developed ELISA systems.  
J. An. Phys. Nutr. 81: 239-248
- Fahey, J.L.; McKelvey, E.M. (1965):  
Quantitative determination of serum immunoglobulins in antibody-agar plates.  
J. Immunol. 94: 84-90
- Ferguson, L.C.; Irwin, M.R.; Beach, B.A. (1941):  
The effect of parturition on the blood picture of cows in health and during infection with *Brucella abortus*.  
Am. J. Vet. Res. 2: 394-399
- Foley, J.A.; Otterby, D.E. (1978):  
Availability, storage, treatment, composition, and feeding value of surplus colostrum: A review.  
J. Dairy Sci. 61: 1033-1060
- Franklin, S.T.; Newman, M.C.; Newman, K.E.; Meek, K.I. (2005):  
Immune parameter of dry cows fed mannan oligosaccharide and subsequent transfer of immunity to calves.  
J. Dairy Sci. 88: 766-775
- Friedli, U. (1965):  
Häufigkeit der einzelnen Geburtsstörungen beim Rind unter schweizerischen Praxisverhältnissen.  
Schweiz. Arch. Tierheilk. 107: 497-532
- Goff, J.P.; Horst, R.L. (1997):  
Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders.  
J. Dairy Sci. 80: 1260-1268
- Goff, J.P.; Kimura, K. (2002):  
Effect of mastectomy on milk fever, energy, and vitamins A, E, and  $\beta$ -carotene status at parturition.  
J. Dairy Sci. 85: 1427-1436
- Goff, J.P. (2006):  
Major advances in our understanding of nutritional influence on bovine health.  
J. Dairy Sci. 89: 1292-1301
- Graen, R. (1985):  
Untersuchung über den Einfluss der Leukozytenzahl und Leukozytenaktivität im Blut auf den Nachgeburtsabgang beim Rind.  
Vet. Med. Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover
- Gränzer, W. (1986):  
Die quantitative Bestimmung der Immunglobuline beim Rind: Definition, Methoden, Ergebnisse und Ergebnisevaluationen.  
Tierärztl. Umschau 41: 824-834
- Gram, O. (1950):  
Changes in the blood, adrenals and hypophysis in bovine parturient paresis and eclampsia.  
Acta endocrinol. 5: 413-424
- Gunnink, J.W. (1984):  
Pre-partum leukocytic activity and retained placenta.  
Vet. Q. 6: 52-54

- Guy, M.A.; McFadden, T.B.; Cockrell, D.C.; Besser, T.E. (1994):  
Regulation of colostrum formation in beef and dairy cows.  
J. Dairy Sci. 77: 3002-3007
- Hancock, D.D. (1985):  
Assessing efficiency of passive immune transfer in dairy herds.  
J. Dairy Sci. 68: 163-183
- Hartig, U. (1986):  
Untersuchungen zum Verlauf der Glukokortikoidkonzentration post partum beim Rind unter besonderer Berücksichtigung von Streßexposition und Nachgeburtsverhaltung.  
Vet. Med. Diss., Hannover
- Heuwieser, W.; Hartig, U.; Offeney, F.; Grunert, E. (1987):  
Zur Bedeutung von Glukokortikoiden als Streßparameter beim Rind im peripartalen Zeitraum.  
J. Vet. Med. A. 33: 178-187
- Hoffmann, B.; Schams, D.; Gimenez, T.; Ender, M.L.; Herrmann, C.H.; Karg, H. (1973):  
Changes of progesterone, total oestrogens, corticosteroids, prolactin and LH in bovine peripheral plasma around parturition with special reference to the effect of exogenous corticoids and prolactin inhibitor respectively.  
Acta Endocrinol. 73: 385-395
- Holman, H.H. (1955):  
The blood picture of the cow.  
Brit. Vet. J. 111: 440-457
- Hopkins, F.M.; Dean, D.F.; Greene, W. (1984):  
Failure of passive transfer in calves: Comparison of field diagnosis methods.  
Mod. Vet. Pract. 65: 625-628
- Hudson, S.; Mullford, M.; Whittlestone, W.G.; Payne, E. (1975a):  
Diurnal variations in blood cortisol in the dairy cow.  
J. Dairy. Sci. 58: 30-34
- Hudson, S.; Mullford, M.; Whittlestone, W.G.; Payne, E. (1975b):  
Bovine plasma corticoids during parturition.  
J. Dairy Sci. 59: 744-746
- Hurley, W.L.; Doane, R.M. (1989):  
Recent developments in the roles of vitamins and minerals in reproduction.  
J. Dairy Sci. 72: 784-804
- Husband, A.J.; Brandon, M.R.; Lascelles, A.K. (1972):  
Absorption and endogenous production of immunoglobulins in calves.  
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 50: 491-498
- Jeffcott, L.B. (1974):  
Studies on the passive immunity in the foal.  
I. Gammaglobulin and antibody variations associated with the maternal transfer and the onset of active immunity.  
J. Comp. Path. 84: 93-101
- Kehrli, M.E.; Nonnecke, B.J.; Roth, J.A. (1989):  
Alteration in bovine lymphocyte function during the periparturient period.  
Am J Vet Res 50 (2): 215-220
- Kickhöfen, B.; Hammer, D.K.; Scheel, D. (1968):  
Isolation and characterization of  $\gamma$ G type immunoglobulins from bovine serum and colostrum.  
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 349: 1755

- Kimura, K.; Goff, J.P.; Kehrli Jr., M.E.; Reinhardt, T.A. (2002):  
Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cows.  
J. Dairy Sci. 85: 544-550
- Kimura, K.; Reinhardt, T.A.; Goff, J.P. (2006):  
Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle.  
J. Dairy Sci. 89: 2588-2595
- Klaus, G.G.B.; Bennett, A.; Jones, E.W. (1969):  
A quantitative study of the transfer of colostral immunoglobulins to the newborn calf.  
Immunology 16: 293-299
- Kolb, E. (1995):  
Die Bedeutung des Vitamins A für das Immunsystem (Übersichtsreferat):  
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 108: 385-390
- Kratzsch, J. (1984):  
Methodische Beiträge zur Competitiven Proteinbindungsanalyse und zum Radioimmunoassay für die Bestimmung von Cortisol und Corticosteron im Serum bzw. Plasma einiger landwirtschaftlicher Nutztiere.  
Dissertation, Univ. Leipzig
- Lack, P. (2006):  
Bestimmung von Immunglobulin G und M im Serum neugeborener Kälber während der ersten zehn Lebenstage unter besonderer Berücksichtigung des Fütterungsregimes.  
Inaugural-Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen
- Lambrecht, G.; Frerking, H.; Henkel, E. (1982):  
Bestimmung von IgG, IgA und IgM im Erstkolostrum des Rindes mit Hilfe der Nephelometrie und der radialen Immunodiffusion unter besonderer Berücksichtigung von Jahreszeit, Laktationsnummer und Vererbung.  
Dtsch. Tierärztl. Wschr. 89: 107-110
- Lambrecht, G.; Petzold, K. (1984):  
Kritische Beurteilung der quantitativen Immunglobulinbestimmung beim Kalb.  
Tierärztl. Prax. 12: 535-539
- Lamote, I.; Meyer, E.; De Ketelaere, L.; Duchateau, L.; Burvenich, C. (2006):  
Expression of the estrogen receptor in blood neutrophils of dairy cows during the periparturient period.  
Theriogenology 65: 1082-1098
- Larsen, P.R. (1982):  
Thyroid-pituitary interaction, Feedback regulation of thyrotropin secretion by thyroid hormones.  
New Engl. J. Med. 306: 23-32
- Larson, B.L. (1958):  
Transfer of specific blood serum proteins to lacteal secretions near parturition.  
J. Dairy Sci. 41: 1033-1049
- Larson, B.L. (1972):  
Immunoglobulins of the mammary secretions.  
in: Advanced Dairy Chemistry, Vol.1: Proteins; S. 231-254  
P.F. Fox, ed. Elsevier Science Publisher LTD, Cambridge, Great Britain
- Lewis, G.S. (1997):  
Symposium: Health problems of the postpartum cow  
Uterine health and disorder  
J. Dairy Sci. 80: 984-994

- Logan, E.F.; Penhale, W.J.; Jones, R.A. (1972):  
Changes in the serum immunoglobulin levels of colostrum-fed calves during the first 12 weeks post partum.  
Res. Vet. Sci. 14: 394-397
- Lona, V.; Romero, C. (2001):  
Short communication: Low levels of colostral immunoglobulins in some dairy cows with placental retention.  
J. Dairy Sci. 84: 389-391
- Mach, J.-P.; Pahud, J.-J. (1971):  
Secretory IgA, a major immunoglobulin in most bovine external secretions.  
J. Immunol. 106: 552-563
- Mallard, B.A.; Dekkers, J.C.; Ireland, M.J.; Leslie, K.E.; Sharif, S.; Lacey Vankampen, C.; Wagter, L.; Wilkie, B.N. (1998):  
Alteration in immune responsiveness during the peripartum period and its ramification on dairy cow and calf health.  
J. Dairy Sci. 81: 585-595
- Mancini, G.; Carbonara, A.O.; Heremans, J.F. (1965):  
Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion.  
Immunochemistry 2: 235-254
- Marx, D.; Grunert, E.; Bauer, C. (1987):  
Untersuchung über die Beachtung des „natürlichen Abkalbevorganges“; Ergebnisse 25-jährigen Tätigkeit in den beiden Rinderherden der Universität Hohenheim.  
Tierärztl. Umsch. 42: 350-356
- Maunsell, F.P.; Morin, D.E.; Constable, P.D.; Hurley, W.L.; McCoy, G.C.; Kakoma, I.; Isaacson, R.E. (1998):  
Effects of mastitis on the volume and composition of colostrum produced by Holstein cows.  
J. Dairy Sci. 81: 1291-1299
- McDougall, S. (2001):  
Effects of periparturient diseases and conditions on the reproductive performance of New Zealand dairy cows.  
N Z Vet J. 49 (2): 60-67
- McEwan, A.D.; Fisher, E.W.; Selman, I.E.; Penhale, W.J. (1970):  
A turbidity test for the estimation of immune globulin levels in neonatal calf serum.  
Clin. Chim. Acta 27: 155-163
- McVicker, J.K.; Rouse, G.C.; Fowler, M.A.; Perry, B.H.; Miller, B.L.; Johnson, T.E. (2002):  
Evaluation of a lateral-flow immunoassay for use in monitoring passive transfer of immunoglobulins in calves  
Am. J. Vet. Res. 63: 247-250
- Mechor, G.D.; Gröhn, Y.T.; McDowell, L.R.; Van Saun, R.J. (1992):  
Specific gravity of bovine colostrum immunoglobulins as affected by temperature and colostrum components.  
J. Dairy Sci. 75: 3131-3135
- Merril, W.G.; Smith, V.R. (1954):  
A comparison of some cellular and chemical constituents of blood at time of parturition and after administration of adrenocorticotropin.  
J. Dairy Sci. 37: 546-552
- Moberg, R. (1955):  
The white blood picture in sexually mature female cattle with special reference to sexual conditions.  
Vet. Med. Diss., Stockholm
- Moberg, R. (1956):  
The white blood picture during parturition in cows with special reference to retained fetal membranes.  
Proc.: 3. Int. Congr. Anim. Reprod. And A.I., Cambridge Vol. 2: 58-60

- Moore, M.; Tyler, J.W.; Chigerwe, M.; Dawes, M.E.; Middleton, J.R. (2005):  
Effect of delayed colostrum collection on colostral IgG concentrations in dairy cows.  
J. Am. Vet. Med. Assoc. 226 (8): 1375-1377
- Muller, L.D.; Ellinger, D.K. (1981):  
Colostral immunoglobulin concentrations among breeds of dairy cattle.  
J. Dairy Sci. 64: 1727-1730
- Murphy, B.E.P. (1967):  
Some studies of protein binding of steroids and their application to the routine micro and ultramicro measurement of various steroids in body fluids by competitive protein-binding assay  
J. Clin. Endocrinol. 27: 973
- Naylor, J.M.; Kronfeld, D.S. (1977):  
Refractometry as a measure of the immunoglobulin status of the newborn dairy calf: Comparison with the zinc sulfate turbidity test and single radial Immunodiffusion.  
Am. J. Vet. Res. 38: 1331-1334
- Norman, L.M.; Hohenboken, W.D.; Kelley, K.W. (1981):  
Genetic differences in concentrations of immunoglobulins G<sub>1</sub> and M in serum and colostrum of cows and in serum of neonatal calves.  
J. Animal Sci. 53: 1465-1472
- Nossal, G.J.; Austin, C.M.; Ada, G.L. (1965):  
Antigens in immunity. VII. Analysis of immunological memory  
Immunology 9: 333-348
- Otto, B. (2003):  
Untersuchung zur Jodversorgung und zur Schilddrüsenfunktion bei Färsen und Kühen  
Inaugural-Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen
- Paterson, J.Y.F. (1957):  
17-Hydroxycorticosteroids and leukocytes in the blood of dairy cattle.  
J. Comp. Path. 67: 165-179
- Pirro, F. (1993):  
Untersuchungen zur laktogenen Immunität des Rindes gegen Shiga-like Toxin von E. coli.  
Inaugural-Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen
- Pomsl, Th. (1980):  
Hämatologische Normalwerte beim Rind in Abhängigkeit von Alter und Trächtigkeit.  
Eine Auswertung der Literatur  
Inaugural-Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen
- Porter, P. (1971):  
Immunoglobulin A in bovine mammary secretions and serum.  
Biochem. Biophys. Acta 236: 664-674
- Pritchett, L.C.; Gay, C.C.; Besser, T.E.; Hancock, D.D. (1991):  
Management and production factors influencing immunoglobulin G<sub>1</sub> concentration in colostrum from Holstein cows.  
J. Dairy Sci. 74: 2336-2341
- Radostits, M.; Acres, S.D. (1980):  
The prevention and control of epidemic of acute undifferentiated diarrhoea of beef calves in Western Canada.  
Can. Vet. J. 21: 243-249
- Rea, D.E.; Tyler, J.W.; Hancock, D.D.; Besser, T.E.; Wilson, L.; Krytenberg, D.S.; Sanders, S.G. (1996):  
Prediction of calf mortality by use of tests for passive transfer of colostral immunoglobulin.  
J. Am. Vet. Med. Ass. 208: 2047-2049

Roitt, I.M.; Brostoff, J.; Male, D.K. (1995):  
Immunglobuline in:  
Kurzes Lehrbuch der Immunologie: 43-53  
3. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart

Samuel, C.A.; Allen, W.R.; Steven, D.H. (1976):  
Studies on the equine placenta.  
2. Ultrastructure of the placental barrier.  
J. Reprod. Fertil. 48: 257-264

Schliesser, Th. (1990):  
Immunologie in:  
Allgemeine Pathologie für Tierärzte und Studierende der Tiermedizin, 8. Aufl.  
H. Stünzi und E. Weiss, Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg: 154-192

Schmidt, F.W.; Kim, J.W.; Derenbach, J.; Langholz, H.J. (1982):  
Kolostrallimmunität und Aufzuchtleistung von Kälbern in der Mutterkuhhaltung.  
Tierärztl. Umsch. 7: 485-488

Schnorr, B. (1996):  
Plazentation beim Wiederkäuer  
in: Embryologie der Haustiere  
Enke Verlag, Stuttgart

Seyrek-Intas, K. (1993):  
Elektrolytstatus und Glucosekonzentration im Blut sowie intravasale Säure-Basen-Verhältnisse bei Rindern  
während und nach dem Partus, unter besonderer Berücksichtigung des Schweregrades der Geburt.  
Inaugural-Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen

Shearer, J.; Mohammed, H.O.; Brenneman, J.S.; Tran, T.Q. (1992):  
Factors associated with concentrations of immunoglobulins in colostrum at the first milking post-calving.  
Prev. Vet. Med. 14: 143-154

Shultz, R.D.; Dunne, H.W.; Heist, C.E. (1971):  
Breed differences in the immune response of newborn calves.  
Am. J. Vet. Res. 32: 1337-1341

Sobiraj, A.; Draeger, K.-G.; Bostedt, H. (1987):  
Über den Einfluss von Geburtsverlauf und Nachgeburtsabgang auf den bakteriellen Keimgehalt des bovinen  
Uterus unter besonderer Berücksichtigung der Resistenzlage von Bakterien unter wiederholter lokal-  
antibiotischer Behandlung.  
Zuchthyg. 22: 173-183

Sobiraj, A.; Ostertag, H.-U.; Peip, D.; Bostedt, H.; Kielwein, G. (1988):  
Klinische und bakteriologische Untersuchungsbefunde zur Mastitishäufigkeit erstmalig laktierender Rinder intra  
und post partum.  
Tierärztl. Prax. 16: 243-249

Sobiraj, A. (1992):  
Untersuchungen zur Morphologie sowie zur Histologie und Biologie des Uterus bei Rindern in der frühen  
postpartalen Periode.  
Habilitationsschrift Gießen

Stengel, K.-H. (1998):  
Immunglobulin G-Bestimmung im Blutserum neugeborener Kälber in den ersten zehn Lebenstagen sowie im  
Kolostrum derer Mütter mittels eines neu entwickelten kompetitiven ELISA.  
Inaugural-Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen



- Storkebaum, K.H. (1951):  
Das Blutbild gesunder, nicht tragender und tragender gesunder Rinder.  
Inaugural-Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen
- Straub, O.C.; Schalm, O.W.; Hughes, J.P.; Theilen, G.H. (1959):  
Bovine Haematology II  
Effect of parturition and retention of fetal membranes and blood morphology.  
J. Am. Vet. Med. Assoc. 135: 618-622
- Sutherland, R.J.; Black, H.; Whangarei, P.B.; Cockrem, F.R.M. (1979):  
Prediction of periparturient disease in dairy cows.  
N Z Vet J. 27 (12): 275
- Szepeshelyi, A. (1934):  
Das Blutbild der Rinder und der Hunde während der Trächtigkeit, bei der Geburt und bei Erkrankungen der Geschlechtsorgane.  
Berl. Münchn. Tierärztl. Wschr. 50: 373-374
- Taday, B.-G. (1998):  
Entwicklung eines kompetitiven ELISA zur Immunglobulinbestimmung des Kalbes.  
Persönliche Mitteilung
- Tennant, B.; Baldwin, B.H.; Braun, R.K.; Norcross, N.L.; Sandholm, M. (1979):  
Use of the glutaraldehyde coagulation test for detection of hypogammaglobulinemia in neonatal calves.  
J. Am. Vet. Med. Ass. 174: 848-853
- Thijn, J.W. (1967):  
De ontwikkeling van het normale witte bloedbeeld bij het rund vanaf de geboorte.  
T. Diergeneesk. 92: 648-661
- Thun, R. (1987):  
Untersuchungen über die Tagesrhythmik von Cortisol beim Rind.  
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart
- Tyler, J.W.; Besser, T.E.; Wilson, L.; Hancock, D.D.; Sanders, S.; Rea, D.E. (1996a):  
Evaluation of a whole blood glutaraldehyde coagulation test for the detection of failure of passive transfer in calves.  
J. Vet. Int. Med. 10: 82-84
- Tyler, J.W.; Hancock, D.D.; Parish, S.M.; Rea, D.E.; Besser, T.E.; Sanders, S.G.; Wilson, L.K. (1996b):  
Evaluation of three assays for failure of passive transfer in calves.  
J. Vet. Int. Med. 10: 304-307
- Tyler, J.W.; Steevens, B.J.; Hostetler, D.E.; Holle, J.M.; Denbigh, J.L. (1999):  
Colostrum immunoglobulin concentrations in Holstein and Guernsey cows.  
Am. J. Vet. Res. 60: 1136-1139
- Warko, G.; Bostedt, H. (1993):  
The development of the IgG concentration in the blood serum of newborn foals.  
Tierärztl. Prax. 21(6): 528-35
- Weaver, D.M.; Tyler, J.W.; VanMetre, D.C.; Hostetler, D.E.; Barrington, G.M. (2000):  
Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves.  
J. Vet. Intern. Med. 14: 569-577
- White, D.G. (1986):  
Evaluation of a rapid specific test for detecting colostral IgG in the neonatal calf.  
Vet. Rec. 118: 68-70

---

Wilson, M.R.; Duncan, J.R.; Heistand, F. (1972):

The influence of preparturient intramammary vaccination on immunoglobulin levels in bovine mammary secretions.

Immunology 23: 3313-3320

---

$\Delta$ BE	Base excess
fT <sub>3</sub>	freies Trijodthyronin
fT <sub>4</sub>	freies Thyroxin
IU/IE	internationale Einheiten
kDa	Kilodalton = 1.000 Dalton
KGH	konservative Geburtshilfe
l	Liter
LAT	Latexagglutinationstest
lg	Logarithmus
M	Molar
mg	Milligramm
MHC	Major Histocompatibility complex
min	Minute
mm	Millimeter
M-Zellen	Gedächtniszellen
μl	Mikroliter
n	Stichprobenumfang
N	Normal (chemisch)
NaCl	Natriumchlorid
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Natriumcarbonat
NaHCO <sub>3</sub>	Natriumhydrogencarbonat
NaOH	Natriumhydroxid
NaN <sub>3</sub>	Natriumazid
ng	Nanogramm
NK	„natürliche Killerzellen“
nm	Nanometer
n.s.	nicht signifikant
n.t.	nicht typisierbar
p	Wahrscheinlichkeit
p.p.	post partum
P	Punkte
PCR	Polymerasekettenreaktion
PGE	Prostaglandin E

---

r	Korrelationskoeffizient
RNA	Ribonukleinsäure
$r_s$	Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman
RT	Raumtemperatur
s	Standardabweichung
S	Svedberg (Sedimentationskonstante)
SF	Streufaktor
sRid	einfache radiale Immundiffusion
$T_3$	Trijodthyronin
$T_4$	Thyroxin
Tab.	Tabelle
TBS	Tris-Puffer
TBST	Tris-Puffer mit Tween
$T_H$	T-Helferzellen
$T_S$	T-Suppressorzellen
V.	Vena
WBC	Leukozyten (white blood cells)
$x_{\max}$	Maximalwert
$x_{\min}$	Minimalwert
$\xi_g$	geometrischer Mittelwert
$\xi$	arithmetischer Mittelwert
ZST	Zinksulfattrübungstest

Tabelle 1) Probanden mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode (n = 18)

Probenentnahme	IgG (mg/ml)	IgM (mg/ml)	Leukozyten (G/l)	Lymphozyten (G/l)	Kortisol (ng/ml)
56. Tag a.p.	36,8 ± 11,6	6,1 ± 4,2	7,3 ± 1,5	2,9 ± 1,0	3,2 ± 1,7
42. Tag a.p.	34,6 ± 9,1	6,3 ± 4,7	6,8 ± 1,1	2,6 ± 0,8	2,2 ± 1,3
28. Tag a.p.	29,0 ± 10,7	6,7 ± 5,3	7,0 ± 1,2	2,7 ± 0,9	1,4 ± 1,0
14. Tag a.p.	25,5 ± 11,3	4,0 ± 2,6	7,0 ± 1,3	2,6 ± 0,9	1,7 ± 1,2
1 Tag a.p.	18,0 ± 9,1	4,9 ± 3,2	7,4 ± 1,5	2,3 ± 0,7	2,4 ± 2,4
Partus	15,0 ± 6,4	3,7 ± 2,5	10,1 ± 1,8	2,3 ± 0,8	6,2 ± 2,8
unmittelbar p.p.	15,6 ± 6,8	3,5 ± 2,8	9,6 ± 1,6	2,2 ± 0,8	6,7 ± 3,3
12. Stunde p.p.	18,3 ± 10,0	4,1 ± 3,0	11,3 ± 2,7	2,2 ± 0,7	2,7 ± 1,3
1. Tag p.p.	19,7 ± 11,3	4,2 ± 2,7	8,0 ± 2,2	2,3 ± 0,8	2,2 ± 0,9
2. Tag p.p.	20,8 ± 9,4	3,9 ± 2,6	6,6 ± 2,2	2,1 ± 0,7	2,2 ± 1,6
3. Tag p.p.	20,9 ± 10,2	4,3 ± 2,9	6,4 ± 1,5	2,1 ± 0,6	1,8 ± 1,0
4. Tag p.p.	22,1 ± 9,6	4,5 ± 3,6	6,1 ± 1,8	2,2 ± 0,7	1,0 ± 0,7
5. Tag p.p.	23,9 ± 9,7	3,6 ± 2,8	6,0 ± 1,8	2,3 ± 1,1	1,2 ± 1,0
7. Tag p.p.	24,8 ± 10,7	3,9 ± 2,5	6,3 ± 1,5	2,8 ± 0,9	1,2 ± 1,1
10. Tag p.p.	27,7 ± 9,2	5,0 ± 4,7	6,5 ± 1,9	2,5 ± 0,9	1,2 ± 1,0
14. Tag p.p.	32,3 ± 10,1	3,7 ± 3,6	5,9 ± 2,0	2,4 ± 1,1	1,1 ± 0,8
21. Tag p.p.	31,6 ± 11,2	3,9 ± 2,8	6,4 ± 1,2	2,2 ± 0,6	1,2 ± 0,9
28. Tag p.p.	36,2 ± 9,9	4,4 ± 3,3	6,5 ± 1,4	2,5 ± 1,2	2,2 ± 2,9

Tabelle 2) Probanden mit Eutokie und ungestörter postpartaler Periode (n = 18)

Probenentnahme	T <sub>3</sub> (ng/ml)	fT <sub>3</sub> (pg/ml)	T <sub>4</sub> (µg/dl)	fT <sub>4</sub> (ng/dl)
56. Tag a.p.	0,91 ± 0,16	3,5 ± 0,5	4,8 ± 1,7	1,05 ± 0,26
42. Tag a.p.	0,92 ± 0,23	3,4 ± 0,7	4,2 ± 1,5	0,97 ± 0,23
28. Tag a.p.	0,78 ± 0,15	3,1 ± 0,6	3,8 ± 1,4	0,90 ± 0,20
14. Tag a.p.	0,82 ± 0,14	3,2 ± 0,6	3,6 ± 1,1	0,83 ± 0,17
Partus	0,84 ± 0,25	3,2 ± 0,6	2,4 ± 0,7	0,62 ± 0,15
1. Tag p.p.	0,74 ± 0,17	3,0 ± 0,4	2,4 ± 0,7	0,60 ± 0,14
3. Tag p.p.	0,68 ± 0,17	2,8 ± 0,7	2,3 ± 1,0	0,61 ± 0,20
5. Tag p.p.	0,59 ± 0,16	2,5 ± 0,5	2,0 ± 0,6	0,59 ± 0,16
7. Tag p.p.	0,60 ± 0,12	2,6 ± 0,5	1,8 ± 0,6	0,60 ± 0,14
14. Tag p.p.	0,66 ± 0,13	2,7 ± 0,4	2,2 ± 0,7	0,66 ± 0,12
21. Tag p.p.	0,74 ± 0,14	2,8 ± 0,5	2,5 ± 0,9	0,71 ± 0,16
28. Tag p.p.	0,64 ± 0,15	2,6 ± 0,4	2,2 ± 0,9	0,63 ± 0,13

Tabelle 3) Arithmetische Mittelwerte der IgG-Konzentrationen in Abhängigkeit vom Verlauf der Geburt und der postpartalen Periode (Angaben in mg/ml)

Probenentnahme	Eutokie mit postpartaler Störung (n = 3)	KGH* ohne postpartale Störung (n = 8)	KGH* mit postpartaler Störung (n = 8)	Sectio caesarea ohne postpartale Störung (n = 10)	Sectio caesarea mit postpartaler Störung (n = 10)
Partus	13,6 ± 4,3	17,0 ± 13,4	10,6 ± 8,8	16,0 ± 9,7	9,3 ± 6,3
unmittelbar p.p.	10,8 ± 6,6	15,9 ± 8,5	8,7 ± 6,5	16,9 ± 14,2	13,2 ± 8,9
12. Stunde p.p.	14,5 ± 6,6	15,0 ± 8,7	12,6 ± 10,0	20,0 ± 17,4	15,7 ± 12,7
1. Tag p.p.	14,5 ± 12,2	17,9 ± 13,9	13,0 ± 10,3	14,2 ± 9,5	10,9 ± 8,3
2. Tag p.p.	13,7 ± 8,1	18,3 ± 10,2	13,6 ± 10,0	15,8 ± 9,7	14,2 ± 13,3
3. Tag p.p.	16,3 ± 4,1	22,5 ± 13,7	16,3 ± 11,0	19,8 ± 14,4	19,6 ± 15,4
4. Tag p.p.	17,3 ± 9,4	21,6 ± 14,0	10,3 ± 7,5	15,2 ± 8,3	11,0 ± 8,2
5. Tag p.p.	17,1 ± 10,4	21,7 ± 9,8	13,8 ± 9,8	20,3 ± 16,6	17,3 ± 15,3
7. Tag p.p.	16,5 ± 8,9	23,8 ± 7,6	20,5 ± 18,4	21,2 ± 15,2	22,4 ± 17,2
10. Tag p.p.	22,5 ± 4,4	22,3 ± 9,2	10,4 ± 8,5	16,5 ± 14,8	16,8 ± 11,8

\* KGH = konservative Geburtshilfe

Tabelle 4) Arithmetische Mittelwerte der IgM-Konzentrationen in Abhängigkeit vom Verlauf der Geburt und der postpartalen Periode (Angaben in mg/ml)

Probenentnahme	Eutokie mit postpartaler Störung (n = 3)	KGH* ohne postpartale Störung (n = 8)	KGH* mit postpartaler Störung (n = 8)	Sectio caesarea ohne postpartale Störung (n = 10)	Sectio caesarea mit postpartaler Störung (n = 10)
Partus	8,4 ± 1,9	4,3 ± 1,7	3,2 ± 2,4	4,2 ± 4,4	3,0 ± 1,8
unmittelbar p.p.	8,2 ± 2,1	4,4 ± 2,2	3,1 ± 2,5	5,1 ± 5,4	4,5 ± 4,4
12. Stunde p.p.	11,7 ± 3,8	5,1 ± 2,5	4,3 ± 3,1	6,3 ± 7,1	5,5 ± 6,7
1. Tag p.p.	9,7 ± 2,6	4,9 ± 1,6	4,2 ± 3,6	4,3 ± 4,7	3,1 ± 2,8
2. Tag p.p.	11,9 ± 0,7	5,5 ± 2,7	4,3 ± 3,9	6,0 ± 6,0	3,5 ± 3,0
3. Tag p.p.	13,2 ± 0,5	6,7 ± 4,5	5,8 ± 4,6	6,5 ± 7,6	5,8 ± 5,3
4. Tag p.p.	9,0 ± 3,2	4,7 ± 2,0	3,0 ± 2,1	4,2 ± 3,7	3,1 ± 2,5
5. Tag p.p.	12,4 ± 6,4	6,0 ± 2,7	4,7 ± 4,3	6,8 ± 7,2	4,1 ± 3,2
7. Tag p.p.	11,8 ± 6,2	6,7 ± 3,1	5,2 ± 5,1	6,3 ± 5,9	6,1 ± 5,7
10. Tag p.p.	8,5 ± 6,0	5,2 ± 2,5	3,8 ± 2,3	5,8 ± 5,2	3,9 ± 2,7

\* KGH = konservative Geburtshilfe

Tabelle 5) Arithmetische Mittelwerte der Kortisolonzentrationen in Abhängigkeit vom Verlauf der Geburt und der postpartalen Periode (Angaben in ng/ml)

Probenentnahme	Eutokie mit postpartaler Störung (n = 3)	KGH* ohne postpartale Störung (n = 8)	KGH* mit postpartaler Störung (n = 8)	Sectio caesarea ohne postpartale Störung (n = 10)	Sectio caesarea mit postpartaler Störung (n = 10)
Partus	8,4 ± 2,8	6,2 ± 3,6	10,8 ± 7,0	19,1 ± 11,0	15,2 ± 6,3
unmittelbar p.p.	7,1 ± 3,2	5,3 ± 3,0	9,4 ± 6,8	19,8 ± 9,3	22,0 ± 17,4
12. Stunde p.p.	4,9 ± 1,4	4,4 ± 3,3	6,3 ± 2,8	8,3 ± 5,9	5,6 ± 4,5
1. Tag p.p.	7,2 ± 1,8	3,3 ± 3,1	4,0 ± 2,7	6,1 ± 4,4	4,2 ± 3,4
2. Tag p.p.	3,2 ± 2,1	1,6 ± 1,4	2,5 ± 0,9	4,2 ± 2,4	3,1 ± 2,5
3. Tag p.p.	2,7 ± 1,7	2,2 ± 1,6	2,1 ± 1,7	3,9 ± 5,1	3,9 ± 4,6
4. Tag p.p.	2,2 ± 0,5	1,6 ± 0,8	2,0 ± 0,8	3,0 ± 1,9	2,6 ± 2,0
5. Tag p.p.	6,1 ± 7,5	1,8 ± 1,1	2,3 ± 1,9	4,0 ± 4,7	2,6 ± 2,2
7. Tag p.p.	1,4 ± 0,3	1,5 ± 1,0	1,6 ± 1,6	2,1 ± 1,8	1,3 ± 1,0
10. Tag p.p.	3,0 ± 1,2	1,5 ± 1,1	1,8 ± 1,7	3,1 ± 2,6	3,0 ± 2,4

\* KGH = konservative Geburtshilfe

Tabelle 6) Probanden mit Dystokie und Retentio secundinarum ohne Störungen des Allgemeinbefindens (n = 9)

Probenentnahme	Partus	unmittelbar p.p.	½ Tag p.p.	1. Tag p.p.	2. Tag p.p.	3. Tag p.p.	4. Tag p.p.	5. Tag p.p.	7. Tag p.p.	10. Tag p.p.
IgG (mg/ml)	11,6 ± 5,9	13,2 ± 4,4	16,6 ± 9,5	12,6 ± 6,5	14,4 ± 6,4	21,5 ± 12,7	12,7 ± 5,9	18,1 ± 9,1	30,0 ± 16,1	19,1 ± 8,2
IgM (mg/ml)	3,9 ± 2,2	5,4 ± 4,4	6,9 ± 6,6	4,3 ± 2,8	5,3 ± 3,9	7,4 ± 5,2	4,0 ± 2,4	6,0 ± 4,0	8,1 ± 5,3	5,2 ± 2,2

Tabelle 7) Probanden mit Dystokie und Retentio secundinarum mit schwerwiegenden Störungen des Allgemeinbefindens (n = 9)

Probenentnahme	Partus	unmittelbar p.p.	½ Tag p.p.	1. Tag p.p.	2. Tag p.p.	3. Tag p.p.	4. Tag p.p.	5. Tag p.p.	7. Tag p.p.	10. Tag p.p.
IgG (mg/ml)	8,1 ± 8,5	9,2 ± 10,4	12,0 ± 13,2	11,0 ± 11,4	13,5 ± 15,7	14,7 ± 13,9	8,6 ± 8,9	13,4 ± 16,1	13,1 ± 14,5	8,8 ± 10,8
IgM (mg/ml)	2,3 ± 1,6	2,3 ± 2,0	2,9 ± 2,8	2,9 ± 3,5	2,4 ± 2,1	4,2 ± 4,2	2,1 ± 1,7	2,7 ± 2,5	3,3 ± 4,3	2,5 ± 1,9

## **Danksagung**

Es ist mir ein Anliegen, an dieser Stelle allen sehr herzlich zu danken, durch deren Begleitung und Hilfe diese Arbeit ermöglicht wurde.

Herrn Professor Dr. Dr. h. c. mult. H. Bostedt möchte ich ganz besonders für die Überlassung des Themas und die vielfältige Unterstützung bei der Erstellung dieser Dissertation sowie für die intensive Betreuung und die ständige Diskussionsbereitschaft danken.

Insbesondere danke ich der H. Wilhelm Schaumann Stiftung für die Förderung des Projektes und die finanzielle Unterstützung, wodurch diese Dissertation erst ermöglicht wurde.

Ich bedanke mich bei Fr. Blad-Stahl aus dem Labor der KGGA für deren Hilfe, bei Herrn Damm für die aufwendige Konzentrationsbestimmung der Schilddrüsenhormone, bei Frau Prof. Dr. Einspanier und Frau Dr. rer. nat. Gottschalk der Universität Leipzig für die zeitnahen Kortisolbestimmung sowie bei Herrn Dr. K. Failing für die statistische Auswertung der umfangreichen Daten.

Herzlichen Dank auch an alle Kollegen und Kolleginnen, Famulanten und Intensiv Klinikern für die Mithilfe bei der Neuaufnahme von Patienten, das tolle Arbeitsklima sowie die tatkräftige Unterstützung bei so manchen Probenentnahmen.

Weiterhin geht ein besonderer Dank an das gesamte Team der Tierpfleger der KGGA, für ihre ständige Hilfsbereitschaft und das mir so oft entgegen gebrachte Verständnis sowie an das Institut für Biochemie und Endokrinologie für die Überlassung der Räumlichkeiten zur Bestimmung der Immunglobulinkonzentrationen.

Nicht zu letzt bin ich meiner Familie und meinen Freunden in herzlicher Dankbarkeit verbunden, jene mich unermüdlich gestützt haben und jederzeit ein Wort der Aufmunterung für mich parat hatten.



## **Erklärung zur Durchführung der Dissertation**

Ich, Marco Herr, erkläre:

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruht, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.